

# ***„PURINERG” IDEGEK SZEREPE A BÉL BEIDEGZÉSÉBEN***

## **EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

Dr. Undi Sarolta

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Vezetője: Dr. Barthó Loránd, egyetemi tanár

*Program: Vegetatív és szenzoros idegek zsigeri működése és  
farmakológiája*

Program- és témavezető: Dr. Barthó Loránd, egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

**2008**

## Tartalomjegyzék

<b>Rövidítések és kódnevek jegyzéke</b> .....	3
<b>Általános bevezetés</b> .....	5
<i>Az enterális idegrendszer felépítése</i> .....	6
<i>A „ purinerg” neurotranszmisszió</i> .....	10
<b>Célkitűzések</b> .....	17
<b>Kísérletes rész</b> .....	19
<b>1. fejezet: Az ATP és <math>\alpha,\beta</math>-metilén ATP (<math>\alpha,\beta</math>-meATP) hatásainak vizsgálata tengerimalac ileumon</b> .....	19
Bevezetés .....	19
Módszerek és anyagok .....	21
Eredmények .....	24
<i>Az ATP motoros hatásai tengerimalac ileumon</i> .....	24
<i>Az ATP-okozta mozgásválaszok farmakológiai elemzése</i> .....	27
<i>Az <math>\alpha,\beta</math>-meATP hatására létrejött motoros hatások tengerimalac ileumon</i> .....	31
<i>Az <math>\alpha,\beta</math>-meATP-vel kiváltott tachyphylaxia vizsgálata tengerimalac ileumon</i> ...	32
<i>Az <math>\alpha,\beta</math>-meATP tachyphylaxia hatása az ideg-közvetítette ileum kontrakciókra</i>	34
Megbeszélés .....	36
<i>Az ATP-hatás farmakológiai befolyásolása</i> .....	36
<i>Az <math>\alpha,\beta</math>-meATP hatásának farmakológiai befolyásolása</i> .....	39
<i>Az ATP és az <math>\alpha,\beta</math>-meATP hatása független a kapszaicin-érzékeny neuronoktól</i>	40
<i><math>\alpha,\beta</math>-meATP tachyphylaxia hatása az elektromos idegingerléssel és nikotinnal kiváltott válaszokra</i> .....	40
Következtetések .....	41
<b>2. fejezet: „Purinerg” idegek szerepe humán ileum nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) relaxációjában</b> .....	42
Bevezetés .....	42
Módszerek és anyagok .....	43
Eredmények .....	45
Megbeszélés .....	51
<b>3. fejezet: Kapszaicin- ill. VIP-tachyphylaxia hatásai a humán szigmbél NANC gátló válaszaira</b> .....	53
Bevezetés .....	53
Módszerek és anyagok .....	55
Eredmények .....	56
<i>VIP tachyphylaxia hatása az elektromos téringерlés által kiváltott NANC relaxációra és a kapszaicin-okozta gátló válaszra emberi szigmbélen</i> .....	56
<i>Kapszaicin tachyphylaxia hatása az elektromos ingerléssel kiváltott NANC relaxációra emberi szigmbélen</i> .....	59
Megbeszélés .....	60
<b>Összefoglalás</b> .....	61
<b>Irodalomjegyzék</b> .....	63
<b>A PhD-értekezés alapjául szolgáló közlemények</b> .....	72
<b>Az értekezés témájához kapcsolódó egyéb közlemények</b> .....	73
<b>Az értekezés témájához kapcsolódó előadáskivonatok</b> .....	74
<b>Az értekezés témájához kapcsolódó kongresszusi szereplések</b> .....	74
<b>A PhD-értekezéssel összefüggésben nem álló közlemények</b> .....	77
<b>Köszönetnyilvánítás</b> .....	80

## Rövidítések és kódnevek jegyzéke

$\alpha,\beta$ -meATP	$\alpha,\beta$ -metilén-adenozin-5'-trifoszfát
ADP	adenozin-5'-difoszfát
ADP $\beta$ S	adenozin-5'-O-2-tiodifoszfát
AMP	adenozin-5'-monofoszfát
ATP	adenozin-5'-trifoszfát
$\beta,\gamma$ -meATP	$\beta,\gamma$ -metilén-adenozin-5'-trifoszfát
cAMP	ciklikus adenzin-3',5'-monofoszfát
CCK	kolecisztokinin
CGRP	kalcitonin gén-rokon peptid (calcitonin gene-related peptide)
CNT	koncentratív nukleozid transzporter
CO	szén-monoxid
EFS	elektromos téringerlés (electrical field stimulation)
E-NDPK	ekto-nukleozid difoszfokináz
E-NPP	ekto-nukleotid pirofoszfataz
ENS	enterális idegrendszer (enteric nervous system)
ENT	ekvilibratív nukleozid transzporter
E-NTPD-áz	ekto-nukleozid trifoszfát-difoszfahidroláz
GI	gasztrointesztinális
IJP	inhibitoros junkciós potenciál
L-NOARG	N <sup>G</sup> -nitro-L-arginin
MRS 2179	N <sup>6</sup> -metil 2'-deoxiadenozin-3',5'-biszfoszfát
NANC	nem-adrenerg, nem-kolinerg
NF 279	8,8'-[karbonilbisz(imino-4,1-fenilénkarbonilimino-4,1-fenilénkarbonilimino)]bisz-1,3,5-naftaléntrisulfonsav hexanatrium
NKA	neurokinin A
NO	nitrogén-monoxid
NOS	nitrogén-monoxid szintáz
PACAP	hipofízis adenilát-ciklázt aktiváló polipeptid (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide)
PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub>	prostaglandin F <sub>2<math>\alpha</math></sub>
PPADS	piridoxál-foszfát-6-azofenil-2',4'-szulfonsav

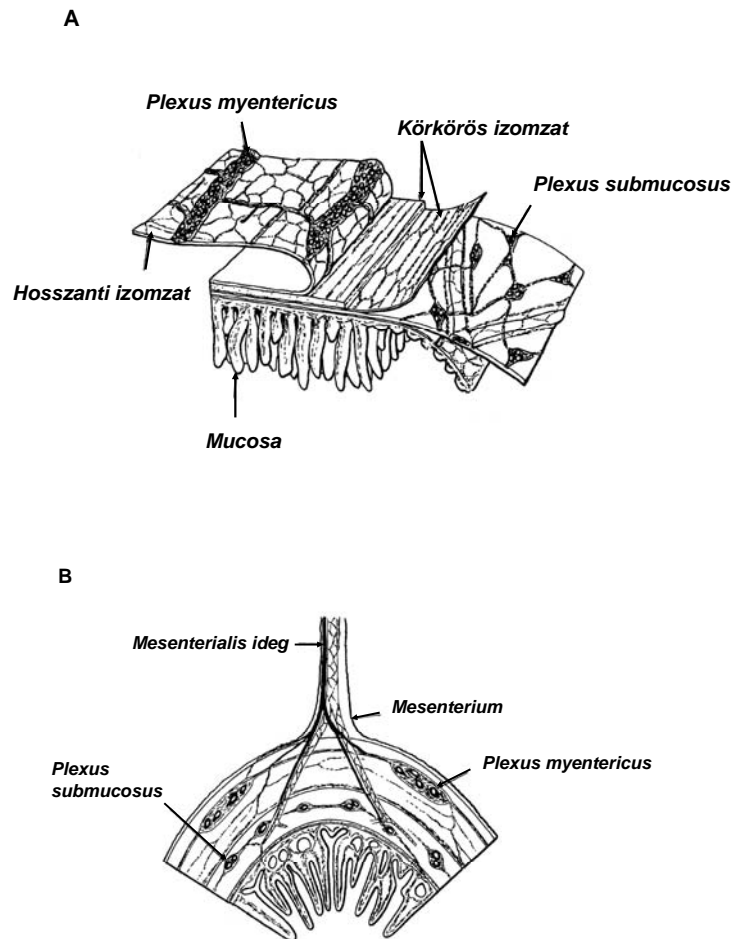
S.E.M.	a középérték középhibája (standard error of mean)
TRPV-1	tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (transient receptor potential vanilloid type 1)
TTX	tetrodotoxin
VIP	vazoaktív intesztinális polipeptid

## Általános bevezetés

A XX. század elején J. N. Langley ismerte fel, hogy a bélrendszer ganglionjai, amelyeket milliós nagyságrendű idegsejt alkot, a központi idegrendszertől független, integratív működésre képes idegi rendszert képeznek (Langley, 1921). Ma már elfogadott tény, hogy az enterális idegrendszer (enteric nervous system) a szimpatikus és paraszimpatikus idegrendszer mellett a vegetatív idegrendszer harmadik tagja (Costa és Brookes, 1994; Goyal és Hirano, 1996; Wood, 1994). Az enterális idegrendszer számos idegi pályával és reflexívvel szabályozza a bélrendszer motoros működését (Bayliss és Starling, 1899; Bornstein, 2008; Costa és Brookes, 1994; Kunze és Furness, 1999; Trendelenburg, 1917), a helyi véráramlást (vazomotor reflexek), a nyálkahártya transzportfolyamatát, valamint modulálja az immun- és endokrin-funkciókat (Galligan, 2008; Hansen, 2003b). Az enterális idegrendszer igen kiterjedt, kb.  $10^7$ - $10^8$  neuront tartalmaz (intrinszik idegek), ami nagyságrendileg a gerincvelői neuronállományhoz hasonlítható (Furness és Costa, 1980). Sok bizonyított és feltételezett neurotranszmitter van jelen az enterális idegrendszerben (pl. acetil-kolin, nitrogén-monoxid (NO), adenzin-5'-trifoszfát (ATP), vazóaktív intesztinális polipeptid (VIP), hipofízis adenilát-ciklázt aktiváló polipeptid (PACAP), kalcitonin gén-rokon peptid (CGRP), kolecisztokinin oktapeptid (CCK), szén-monoxid (CO), tachykininek, stb). Számos transzmitter a bél és a központi idegrendszer neuronjaiban egyaránt előfordul (lásd 8. oldal). Az enterális idegrendszer a központi idegrendszertől függetlenül is képes a bélműködés vezérlésére, a bélhuzam teljes extrinszik idegellátásának kiesése során a funkciók meglepően kevésbé károsodnak (ez nem vonatkozik a gyomor-bélhuzam legproximálisabb és legdisztálisabb szakaszaira). Bayliss és Starling (1899) mutatott ki először gátló és serkentő intrinszik enterális reflexeket kutya denervált vékonybélben, demonstrálva gátló és serkentő motoneuronok jelenlétét a bél falban, illetve saját intrinszik reflexek létezését a bélben – mivel extrinszik denervációt követően lokális feszülésre reflexes simaizommozgást regisztráltak. Az általuk leírt „bél törvényét” később Trendelenburg (1917) megerősítette izolált tengerimalacbélen. A bél falát érő helyi feszítés orális irányú serkentő (kontrakció), aboralis irányú gátló (relaxáció) reflexeket vált ki a körkörös izomzatban. Később ezen felszálló serkentő és leszálló gátló reflexeken kívül kimutattak leszálló serkentő reflexeket is (Costa és Brookes, 1994). Ezen reflexek az enterális érzőidegsejtek (intrinszik afferensek), interneuronok és motoros idegsejtek jelenlétét és összehangolt működését feltételezik.

### *Az enterális idegrendszer felépítése*

Az enterális idegrendszer intrinszik neuronjai a bél falban két fő, ganglionokat tartalmazó idegi plexust alkotnak: a hosszanti és körkörös izomréteg között elhelyezkedő plexus myentericust (Auerbach-plexus), valamint a körkörös izomréteg és a muscularis mucosae között található plexus submucosust (Meissner-plexus) (1. ábra). A submucosus plexus további két részre osztható: belső (Meissner-plexus) és külső plexus submucosusra (Schabadasch-plexus). Emberben a külső és a belső plexus submucosus között futó harmadik neuronhálózatot is leírtak (Hansen, 2003a).



**1. ábra** A bél két fő idegi plexusa (átvéve módosítással: Furness és Costa, 1980).

Ganglion nélküli ideghálózatok a tápcsatorna összes rétegét beidegzik, aminek köszönhetően egy összefüggő, komplex ideghálózat van jelen a gyomor-bélrendszerben (Costa és mtsai, 2000; Furness, 2000). Az enterális neuronok megtalálhatók a hasnyálmirigyben, az epehólyag falában és az extrahepaticus epeutakban is (Furness és Costa, 1980; Furness, 2000).

Az enterális idegrendszerben található intrinszik neuronok morfológiai, elektrofiziológiai, funkcionális és neurokémiai szempontok szerint csoportosíthatók.

*Morfológiai felosztás:* Dogiel 1899-ben három fő morfológiai csoportba osztotta az enterális neuronokat. A Dogiel I-es neuronok sejtteste ovális, egy hosszú és sok rövid nyúlványuk van, a Dogiel II-es neuronok sejtteste gömbölyű, több hosszú nyúlvánnyal rendelkeznek. A Dogiel III-as multipoláris neuronok sejtteste változó, ovális és gömbölyű is lehet, egy hosszú axonuk és több, végződésük felé egyre vékonyodó, a ganglionon belül elágazódó és végződő dendritjük lehet. A klasszikus Dogiel-féle morfológiai osztályozás óta további neuron típusokat, altípusokat különítettek el, mint pl. IV-es, V-ös, VI-os típusú idegsejtek, filamentumos neuronok (lásd Brehmer és mtsai összefoglalója, 1999).

*Elektrofiziológiai tulajdonságok szerinti felosztás:* két sejtípust különböztetnek meg (Hirst és mtsai, 1974). Az 1-es típusú (vagy S) sejtekre az akciós potenciált követő rövid utóhiperpolarizáció jellemző, a 2-es típusú (AH) sejtek esetében az akciós potenciált elnyújtott utóhiperpolarizáció követi.

*Funkcionális felosztás:* Az *intrinszik primer afferens neuronok* képezik az intrinszik enterális reflexívek első neuronjait, amelyek a bél motoros működését, a nyálkahártya transzportot és a lokális véráramlást szabályozzák (Furness és mtsai, 2004). Izgalmukat intralumináris kémiai ingerek (pH-változás, a tápanyagok kémiai összetételének változása), a nyálkahártya mechanikai alakváltozása, a bélbolyhok mozgásai, izomfeszülés váltja ki osmo-, chemo- illetve mechanoreceptorokon keresztül. Elektrofiziológiailag AH-típusú neuronok, morfológiailag a Dogiel II típusba sorolhatók. Szinapszisokat alkotnak interneuronokkal, motoneuronokkal, továbbá ingerelhetnek más intrinszik primer afferenseket is (Furness, 2000). Az enterális idegsejtek túlnyomó része leszálló vagy felszálló *interneuron*, mely a szenzoros és az effektor neuron közti, többnyire többneuronos kapcsolatot biztosítja. Ingerületelosztó szerepük van, láncolatot alkotnak, serkentő és gátló szinapszisokat egyaránt létrehozhatnak (Furness, 2000). Az *effektorneuronok* végződhetnek a körkörös illetve hosszanti simaizomsejten (motoneuron), az erek falában lévő simaizomsejteken

(vazomotor neuron), a mukozális mirigyeken (szekretomotor neuron), valamint a pacemaker sejteken. A motoneuronok lehetnek izgatók és gátlók egyaránt. A serkentő motoneuronok a belőlük felszabaduló transzmitterek közvetítésével simaizomkontrakciót, a nyálkahártyában víz- és elektrolit-szekréciónak váltanak ki. A gátló motoneuronok csökkentik a simaizom kontraktilitását valamint a szekréciónak (Furness, 2000).

*Neurotranszmitterek szerinti felosztás:* Az enterális idegrendszerben számos bizonyított és még több feltételezett transzmittert ismerünk. Ahhoz, hogy egy anyagot transzmitternek tekinthessünk, számos jól definiált kritériumnak kell megfelelnie: (1) az adott anyag, illetve szintézise kimutatható legyen az idegsejtben, (2) a feltételezett transzmitter idegingerléskor szabaduljon fel az idegvégződésből, (3) az anyag exogén beadása ugyanazt a hatást váltsa ki, mint az endogén anyag felszabadulása („a hatás azonosságának elve”), (4) az ingerléskor létrejövő és az exogén beadást követő hatás egyaránt gátlható legyen a specifikus antagonistával („az antagonizmus azonosságának elve”), (5) az anyag lebontásához és/vagy a visszavételéhez szükséges mechanizmusok kimutathatóak legyenek. „Az antagonizmus azonossága” a legerősebb érv egy anyag transzmitterszerepével kapcsolatban. Ha specifikus antagonista nem áll rendelkezésre, speciális szintézisgátló illetve receptor-deszenzibilizáció is használható.

Az enterális idegrendszerben ingerület hatására a neuronok többségéből egyszerre többféle neurotranszmitter szabadulhat fel. Ez a „ko-transzmisszió” jelensége (ld. összefoglaló Burnstock, 2004). Az ingerültátvivő transzmitterek mellett modulátor anyagok is részt vesznek az emésztőrendszer ingerületáttevődési folyamataiban. Egy anyag mediátor vagy modulátor szerepének elkülönítése sokszor nehézségekbe ütközik (Furness, 2000; Furness és mtsai, 2004; Lecci és mtsai, 2002).

*In vitro* bélpreparátum intramuralis idegeinek elektromos téringерlése a muszkarinreceptor antagonistá atropin és az adrenerg neuronblokkoló guanetidin jelenlétében nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) válaszokat eredményez, amelyek izgató vagy gátló jellegűek lehetnek (ld. Bennett, 1997). A válaszokat létrehozó anyagok a NANC neurotranszmitterek.

Az izgató motoneuronok legjelentősebb transzmittere a muszkarinreceptorokon ható *acetylcholin*. A muszkarinreceptorok blokkolása után is marad a válaszokban további izgató komponens, amelyért főként *tachykininek* (P-anyag, neurokinin A) tehetők felelőssé. Intenzív kutatás folyik a neurotensin, galanin, endothelinek, bombesin-szerű peptidek, „vasoactive intestinalis contractor”,olecisztokinin transzmitter-jelöltek



neuroeffektor szerepének bizonyítására vonatkozóan (Dockray, 1994; Lecci és mtsai, 2002).

A NANC relaxációért „nitrenerg”, „purinerg” és „peptiderg” neuronokat tartanak felelősnek (ld. Barthó és mtsai, 1998; Bult és mtsai, 1990; Burnstock, 1972; Hata és mtsai, 2000; Kortezova és mtsai, 1994; Lecci és mtsai, 2002; Said és Rattan, 2004). Az enterális gátló neuronok legfontosabb transzmittere a *nitrogén-monoxid* (NO), de bizonyítékok vannak még ATP, VIP, PACAP, CGRP, neuropeptid Y, pankreatikus polipeptid és szén-monoxid transzmitter szerepére is (Goyal és Hirano, 1996; Lecci és mtsai, 2002).

Megjegyzendő, hogy bizonyos transzmitter-jelöltek mind gátló, mind izgató hatást ki tudnak fejteni. Az endothelinek mind elernyedést, mind összehúzódást létrehozhatnak simaizomzaton, attól függően, hogy mely endothelin receptor aktiválódik (Shahbazian és Holzer, 2000). A ciklikus nukleotidok közvetítésével ható simaizom-gátló neuroeffektor transzmitterek (pl. NO, VIP, CGRP) ugyanakkor növelhetik az idegek ingerlékenységét, ezáltal átmeneti acetil-kolin felszabadulást hoznak létre (Barthó és mtsai, 2005).

Habár az enterális idegrendszer képes a központi idegrendszertől függetlenül is működni, a gyomor-bélrendszer idegi szabályozásában külső (extrinszik) idegek is részt vesznek. A *paraszimpatikus* efferens beidegzés a nervus vagus és a sacralis gerincvelői idegek révén valósul meg. A motoros axonok hálózatot képezve szerteágaznak a plexus myentericusban, így körülveszik szinte az összes myentericus neuront. A tápcsatorna *szimpatikus* beidegzését a praevertebrális ganglionokból kapja. Szimpatikus posztganglionáris noradrenerg neuronok idegzik be a sphinctereket, ahol  $\alpha_1$  receptorokon hatva kontrakciót okoznak, hozzájárulva ezen simaizomgyűrűk magas tónusához. A bélfal arterioláinak innervációját is szimpatikus posztganglionáris neuronok látják el, ahol a noradrenalin mellett az ATP mint kotranszmitter szabadul fel érösszehúzódást okozva.

A bélrendszer beidegzésében extrinszik *afferensek* is részt vesznek. A vagusban futó rostok többsége (kb. 90 %) szenzoros (Powley, 2000). A gerincvelői szenzoros neuronok különlegessége, hogy a periférián, így a gyomor-bélrendszerben is transzmitterek szabadulnak fel belőlük és ezáltal „lokális efferens” funkciót betöltve szerepet játszanak a zsigeri szervek működésében (ld. Barthó és mtsai, 2004; Szolcsányi és Barthó, 2001; Szolcsányi, 1996). Ezek az érző neuronok ingerelhetők kapszaicinnal, a csípős paprika szenzoros izgató anyagával. A módosított Dale-elv alapján

valószínűleg ugyanazon transzmitter-kombináció szabadul fel a neuronok perifériás és centrális idegvégződéseiből. Ezért a bél extrinszik afferens idegeinek nyúlványaiból kiszabaduló transzmitterek azonosak a bélben és a gerincvelőben.

#### *A „purinerg” neurotransmisszió*

Az ATP életműködésben betöltött szerepei közül jól ismert, hogy az élő sejtek intracelluláris energiaforrásként kiemelkedő szerepe van az anyagcsere folyamatokban, továbbá az is régóta tudott, hogy nukleinsav-prekurzorként részt vesz a genetikai anyag felépítésében. Szent-Györgyi és Drury szív- és érrendszeri kísérleteikben írták le elsőként az addig kizárólag intracelluláris energiaforrásként ismert ATP extracelluláris hatásait (Drury és Szent-Györgyi, 1929). Holton nevéhez kapcsolható az első leírás az ATP valószínű neurotranszmitter szerepére vonatkozóan, aki a múlt század közepén végzett kísérletei során szenzoros idegek ingerlésekor ATP felszabadulást mutatott ki (Holton és mtsai, 1959). Az ATP-t felszabadító idegek „purinerg” elnevezése Burnstock nevéhez fűződik. Több mint három évtizede, 1972-ben Burnstock és munkatársai tették közzé azt a hipotézist, mely szerint az intracelluláris energiaforrásként jól ismert molekula, az adenzin-5'-trifoszfát (ATP) extracelluláris neurotranszmitterként is szerepel az emlősök gyomor-bélrendszerében (Burnstock, 1972, 1997). Azóta számos közlemény igazolta, hogy az ATP, az adenzin és más purin nukleotidok, nukleozidok neurotranszmitterként, ko-transzmitterként illetve neuromodulátorként fontos szerepet játszanak a gyomor-bélhuzam működésének szabályozásában (összefoglalók: Burnstock, 2007; Galligan, 2002; Lecci és mtsai, 2002). Az ATP periférián betöltött funkciójának megismerése mellett intenzív kutatás folyik az ATP központi idegrendszeri hatásainak felderítésére is. Kísérletsorozatunkban a **bélhuzam** „purinerg” beidegzésének vizsgálatát, részletesebb feltérképezését tűztük ki célul. Az alábbiakban a „purinerg” neurotransmisszió legalapvetőbb jellegzetességeinek rövid összefoglalására törekszem, az eredmények megértéséhez szükséges bizonyítékokat az egyes fejezetekben külön tárgyalom.

#### *Az ATP szintézise, tárolása, felszabadulása és lebomlása*

Az ATP ubikviter molekula a központi és perifériás idegrendszerben. Az idegvégzésekben jelenlévő ATP ADP-ből keletkezik glikolízis, citromsav-ciklus illetve dominánsan mitokondriális oxidatív foszforiláció révén. Az adenin gyűrű *de*

*novo* purin bioszintézis illetve „purin mentő” folyamatok (extracelluláris térből felvett purinok) során keletkezik. Az adenzin sejtekbe történő felvétele speciális nukleozid transzporterekén keresztül valósul meg. Emlős sejtekben két fő nukleozid transzporter család ismert: (1.) az ekvibratív nukleozid transzporter család (ENT), valamint (2.) a koncentratív nukleozid transzporterek családja (CNT). A CNT-ek  $\text{Na}^+$  függő módon az extracelluláris térből a sejtbe irányuló nukleozid transzportért felelősek, míg az ENT-ek kétirányú transzport lebonyolításában vesznek részt, melynek irányát az aktuális adenzin koncentráció szabja meg (Kong és mtsai, 2004; Thorn és Jarvis, 1996). Az adenzinből adenzin-kináz reakció révén AMP keletkezik, melyből az adenilát-kináz enzim által katalizált reakció során jön létre az ATP szintézis fő szabályozó molekulája: az ADP. Az ADP a neuron aktuális energiaállapotának jelzőmolekulája. Negatív feedback révén szabályozza saját szintézisét és szabályozza a mitokondriális oxidatív foszforilációt (Sperlágh és Vizi, 1996). Azokban az állapotokban, amikor a mitokondriális oxidatív foszforiláció szubsztátjainak (oxigén, glükóz) hiánya áll fenn, az ADP sejtben belüli koncentrációja megnő, aminek következtében a folyamat megfordul és az ektonukleotidázok (ld. lejjebb) révén az adenzin termelés fog túlsúlyba jutni. A nagy mennyiségű intracelluláris adenzin a bidirekcionális ENT-ek segítségével kiáramlik az extracelluláris térbe. Ilyen mechanizmus zajlik az élő szervezetben hypoglykaemia, hypoxia illetve ischaemia során (Chaudary és mtsai, 2004; Cunha, 2001).

A legtöbb neuron citoplazmája kb. 2-5 mM ATP-t tartalmaz, ennél magasabb koncentrációjú ATP vezikulákban tárolódik (100 mM koncentrációig). A szinaptikus vezikulák más nukleotidokat is tartalmaznak, mint pl. ADP, AMP, GTP, de jóval alacsonyabb koncentrációban. A szemlencse epitheliális sejtjei, tumorsejtjei, hímvarsejtjei, vérlemezkék, a hasnyálmirigy béta sejtjei, a mellékvese velőállomány kromaffin sejtjei kiemelkedően magas koncentrációban tartalmazzak ATP-t (Burnstock, 2007; Novak, 2003, 2008).

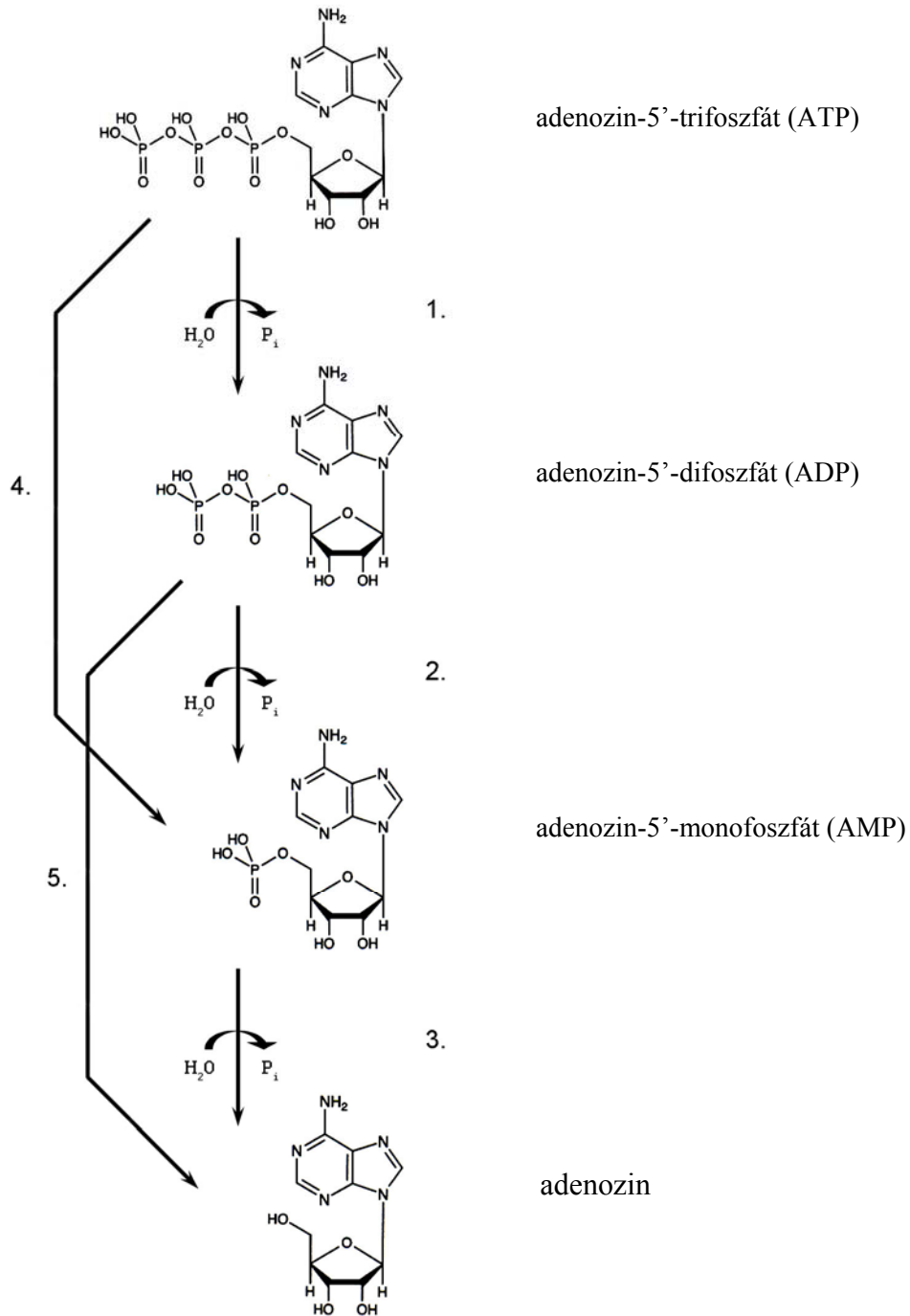
Az ATP extracelluláris térbe történő felszabadulása több úton is megtörténhet: 1. *exocitózissal* – idegsejtekből; 2. *transzporterekén keresztül* („ATP-binding cassette proteins”) – nem-neurális sejtekből; 3. *citólízissel* – sejtkárosodás következtében; 4. *mechanikai hatásra* – egészséges sejtekből, élettani körülmények között (Bodin és mtsai, 1991; Bodin és Burnstock, 2001).

A felszabadult ATP enzimatisz hidrolízis során gyorsan lebomlik, kb. 100 ms-on belül inaktiválódik (Bao, 1993). A lebomlás során ADP, AMP és adenzin keletkezik (lásd 2.

ábra), mely molekulák  $P_2$  illetve főként  $P_1$  purinoceptorok közvetítésével további hatásokat okozhatnak. A neuronokból és nem-neuronális sejtekből felszabaduló ATP lebomlásában több enzimesalád is részt vesz: az ekto-nukleozid trifoszfát-difoszfahidroláz (E-NTPD-áz) család tagjai, az ekto-nukleotid pirofoszfátázok három altípusa (E-NPP), alkalikus foszfátázok, ekto-5'-nukleotidázok, valamint az ekto-nukleozid difoszfokináz (E-NDPK). Az ekto-nukleozid trifoszfát difoszfahidroláz enzimesalád fontos tagja az NTPDáz1, más néven ATP difoszfahidroláz vagy apiráz az ATP-t közvetlenül AMP-vé hasítja. Az NTPDáz2 az ATP-t ADP-vé, az 5'-nukleotidáz az AMP-t adenzinná hidrolizálja. Az ADPDáz2 az ADP-t hidrolizálja egy lépésben adenzinná (Burnstock, 2006a; Robson és mtsai, 2006; Zimmermann, 2000, 2001).

Az ATP és rokon vegyületei purinoceptorokon (purin-receptorokon) keresztül fejtik ki hatásaikat a szöveteken. 1978-ban Burnstock a purin-receptorokon belül két receptorcsaládot különböztetett meg: a  $P_1$  és  $P_2$  típusú purinoceptorokat. A  $P_1$  purinoceptorokra jellemző, hogy az adenzint preferálják, valamint az adenilát-cikláz enzimesrendszer működésének aktiválásával illetve gátlásával az intracelluláris cAMP szint változását befolyásolják. A  $P_1$  purinoceptorokon belül jelenleg az  $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  és az  $A_3$  altípust különböztetik meg (lásd British J. Pharmacol.: Guide to Receptors and Channels, 3rd edition, 2008). A nukleotidokra szelektív  $P_2$  purinoceptorok jelenleg elfogadott felosztása alapján két nagy csoportot különítenek el: a  $P_{2X}$  ligandvezérelt kationcsatorna receptort, valamint a  $P_{2Y}$  G-protein-kapcsolt receptort, mely utóbbi hatását az inozitol-triszfoszfát ( $IP_3$ ) útvonalon az intracelluláris kalciumraktárak mobilizálásával fejt ki (Abbraccio és Burnstock, 1994; Burnstock, 2007; Khakh és mtsai, 2001). Jelenleg a  $P_{2X}$  receptoroknak 7, a  $P_{2Y}$  receptoroknak 8 altípusa ismert (lásd British J. Pharmacol.: Guide to Receptors and Channels, 3rd edition, 2008). Az ATP neuromuszkuláris transzmitterként izgató és gátló hatások kiváltásában egyaránt szerepet játszik számos szerv simaizomzatán. A  $P_{2Y}$  receptorok intracelluláris  $Ca^{2+}$ -vezérelt (apamin-érzékeny)  $K^+$ -csatornák aktiválása útján hozhatnak létre simaizom elernyedést, míg a  $P_{2X}$  receptorok kation influx hatására létrejövő depolarizáció útján közvetítenek izgató hatást.

Az ATP kotranszmitter a noradrenalinál szimpatikus posztganglionáris idegekben, illetve acetil-kolinál a paraszimpatikus neuronokban, részt vesz a húgyhólyag, a vas deferens összehúzódásának illetve elernyedésének mediálásában. Szimpatikus „purinerg”-adrenerg kotranszmissziót mutattak ki eregekben is (Burnstock 1997, 2006a).



**2. ábra** Az adenozin-5'-trifoszfát (ATP) hidrolízise.

Enzimek: **1.** nukleozid-trifoszfát-difoszfahidroláz-2 (NTPDáz2) **2.** NTPDáz1

**3.** 5'-nukleotidáz **4.** nukleozid-trifoszfát difoszfahidroláz-1 (NTPDáz1) vagy apiráz

**5.** ADPDáz2

A „purinerg” neurotranszmisszió vizsgálatára használják az ATP metabolikusan stabil analógjait is, pl.  $\alpha,\beta$ -metilénATP ( $\alpha,\beta$ -meATP), melyek azonban az ATP-től valamelyest eltérő receptorspektrummal rendelkeznek. Léteznek receptor-altípus szelektív agonisták is, pl.  $\beta,\gamma$ -metilénATP (a  $P2X_1$  receptorra), ADP $\beta$ S (a  $P2Y_1$  receptorra), UTP $\gamma$ S (a  $P2Y_2$ ,  $P2Y_4$  receptorokra) (lásd British J. Pharmacol.: Guide to Receptors and Channels, 3rd edition, 2008).

A „purinerg” neurotranszmisszió azonosítására többféle eszköz áll rendelkezésre:

1. Gátlás *ATP tachyphylaxia* létrehozásával. Ennek bizonyító ereje korlátozott. A receptor deszenzibilizációnak több hátránya is van: nem minden purinoceptor deszenzibilizálódik egyformán, mindemellett az ATP-metabolizmus során keletkező termékek (ADP, AMP, adenzin, inozin) is rendelkeznek hatásokkal, továbbá más receptortípusokat is használhatnak, mint az anyavegyület. Használható a metabolikusan stabilabb és nagyobb altípus-specifikussággal rendelkező agonistákkal, pl. az  $\alpha,\beta$ -meATP-vel kiváltott deszenzibilizáció.

2. Gátlás *antagonistákkal*. A „purinerg” válaszok azonosítására az antagonisták használata lenne a legegyszerűbb módszer, azonban ez a farmakológiai eszköz a gyakorlatban számos hátránnyal rendelkezik; ilyenek: a jelenlegi antagonisták viszonylag kis affinitása, illetve eltérő mértékű hatása a különféle receptor-altípusokon. A „purinerg” idegek részvételének kimutatásához vagy elvetéséhez egy NANC válaszban nincs szükség receptor-altípus-specifikus antagonistákra, csak purinoceptor-, illetve  $P_2$  purinoceptor-specifikus anyagokra. Valószínűleg a felszabaduló ATP is számos receptor-altípuson hat egyidőben, ha jelen vannak ezek a receptorok a célsejteken. A különböző ATP-mediált funkciók szelektív befolyásolásához azonban szükség van altípus-specifikus antagonistákra.

3. Gátlás *apaminnal*. A méhmembránból izolált polipeptid gátló hatást fejt ki a kis-konduktanciájú ( $Ca^{2+}$ -vezérelt)  $K^+$ -csatornákra, melyek az ATP simaizomrelaxáló hatását nagyrészt közvetítik. Az utóbbi időben azonban kimutatták, hogy az ATP-n kívül számos más relaxáló anyag is apamin-érzékeny válaszokat képes kiváltani, pl. különböző neuropeptidok (lásd Huidobro-Toro és Yoshimura, 1983; Kishi és mtsai, 1996; Schwörer és mtsai, 1992; Shan és mtsai, 1996; Yamaji és mtsai, 2002; Zagorodnyuk és mtsai, 1996), sőt egyes adatok szerint a nitrogén-monoxid is. Tehát egy apamin-érzékeny NANC relaxációban ATP valószínűleg nem játszik szerepet, azonban egy apamin-érzékeny válasz nem feltétlenül „purinerg”.

### *Az ATP hatásai*

Az ATP ko-transzmitter a vegetatív neuronokban, együttes előfordulását kimutatták mind a noradrenalin, mind az acetil-kolinnal (Burnstock, 2006a). Az ATP szerepet játszhat a nocicepcióban, ugyanis kimutatták, hogy az érző neuronok a peptid transzmitterek (CGRP, tachykininek) mellett ATP-t is tartalmaznak (összefoglaló: Barthó és mtsai, 1999a; Burnstock, 2007; Burnstock és Wood, 1996). Bizonyítékok állnak rendelkezésre a „purinerg” mechanizmusok visceralis fájdalom közvetítésében betöltött szerepéről (Burnstock, 2001, 2007; Holzer, 2007; Wirkner és mtsai, 2007). Ha pontosabban megismerjük az ATP szerepét a fájdalom patomechanizmusában, az új perspektívát jelenthet a fájdalomcsillapításban. A húgyhólyag beidegzésében az acetil-kolinnal kotranszmitterként vesz részt az ATP (Hoyle, 1994). Különböző fajoknál eltérő a kolinerg és „purinerg” idegek aránya. Emberi hólyagon fiziológias körülmények között a „purinerg” idegek szerepe kevésbé jelentős, mint rágcsálók esetében (Hoyle és mtsai, 1989). Számos adat alátámasztja, hogy patológiás viszonyok között és az életkor előrehaladtával nagyobb arányban vesznek részt „purinerg” idegek a szabályozó mechanizmusokban (Palea és mtsai, 1993; Yoshida és mtsai, 2001). Az ATP ereken kettős hatást fejt ki:  $P_{2X}$  receptorokon keresztül vasoconstrictiót okoz,  $P_{2Y}$  receptorokon keresztül indirekt úton, endothelialis NO felszabadulást indukálva vasodilatációt idéz elő (ld. Burnstock, 1997).

Az enterális idegrendszerben az ATP-nek három fő szerepe ismert:

1. enterális motoneuronokból felszabadulva *gátló neurotranszmitterként* simaizom  $P_{2Y}$  receptorokon fejt ki hatást;
2. enterális interneuronok, továbbá interneuron és motoneuronok között *izgató ingerületátvivő anyag*;
3. *szenzoros mediátorként* intrinszik érzőidegvégződéseken fejt ki hatást (Bertrand, 2003).

Ismert, hogy az ATP gasztrointesztinális simaizomzaton izgató és gátló válaszok közvetítésében egyaránt szerepet játszik. Nyúl gyomor simaizomzaton Murthy és Makhlouf  $P_{2Y}$  receptorok szerepét írták le, míg Zagorodnyuk és mtsai tengerimalac colonon végzett kísérleteik alapján valószínűsítették az ATP excitatorikus szerepét a válaszokban (lásd Murthy és Maklout, 1998; Zagorodnyuk és Maggi, 1998). Gastrointestinalis simaizomzaton az elektromos ingerléssel kiváltott apamin-érzékeny inhibitoros junkciós potenciál (IJP) és relaxáció fő mediátorának az ATP-t tartják. Az

enterális idegrendszerben bizonyítottnak tekinthető az ATP és a nitrogén-monoxid ko-transzmitter szerepe. Smits és Lefebvre kimutatták, hogy ATP deszenzibilizáció csökkenti a NANC elernyedést patkány ileumon (Smits és Lefebvre, 1996). Munkacsoportunk antagonisták alkalmazásával bizonyította, hogy ATP és NO együtt felelősek a NANC relaxációért tengerimalac coecum taenián illetve patkány ileum hosszanti izomzat-plexus myentericus preparátumon (Barthó és mtsai 1998; Benkó és mtsai, 2006).

Ma már számos élettani, kórélettani folyamatban bizonyított a purin, pirimidin jelátvivő molekulák szerepe. Patológias kórformák során a purinoceptor expresszió plaszticitásának eredményeként a „purinerg” komponens aránya jelentősen megemelkedik a vegetatív ko-transzmisszóban (összefoglalók: Burnstock, 2006b, 2007). A „purinerg” rendszerbe beavatkozó farmakológiai ágensek intenzív, dinamikus fejlődő kutatás tárgyát képezik a világ kutatóintézeteiben. A „purinerg” jelátviteli mechanizmusra ható gyógyszerek jelenlegi célpontjait a teljesség igénye nélkül az alábbi betegségecsoportok jelentik: 1. központi idegrendszeri betegségek (Parkinson-kór és egyéb neurodegeneratív betegségek, epilepszia, stroke) 2. gyulladásos kórfolyamatok (pl. gyulladásos bélbetegségek) 3. urológiai kórképek 4. malignus betegségek 5. fájdalom, érzékszervi működések 6. immunológiai kórképek 7. kardiovaszkuláris kórképek (hipertónia, szívelégtelenség) (ld. Abbracchio és Burnstock, 1998; Burnstock, 2006b, 2007; Hansen, 2003c; Ren és Bertrand, 2008; Williams, 1999). Szelektív agonisták, antagonisták, P2 receptor expressziót befolyásoló szerek, ATP hidrolízis- és transzport gátlók kifejlesztése új perspektívákat jelenthet számos betegség gyógyításában.



## Célkitűzések

### Kísérleteinkben az alábbi témakörökkel foglalkoztunk részletesen:

1. • Közelebb kívántunk kerülni az ATP lehetséges ideg-idegi, illetve ideg-izom izgató neurotranszmitter szerepének kimutatásához tengerimalac-bélen. Ezért megvizsgáltuk az exogén ATP és  $\alpha,\beta$ -meATP összetett motoros hatásait tengerimalac ileum hosszanti izomzatán.

- Kísérleteket végeztünk az ezen hatások háttérében álló mechanizmusok tisztázására.

- Megvizsgáltuk, vajon képes-e a  $P_2$  purinoceptor antagonist PPADS antagonizálni ezen motoros válaszokat.

- Kísérletet tettünk az  $\alpha,\beta$ -meATP hatását közvetítő purinoceptorok altípusainak – legalább részbeni – tisztázására. Vizsgáltuk az  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia mértékét és a deszenzibilizáció ideg-mediált, kolinerg kontrakcióra kifejtett hatását tengerimalac vékonybélben.

2. • Emberi vékonybél körkörös izomzaton arra a kérdésre kerestük a választ, vajon a „purinerg” idegek szerepet játszanak-e a NANC gátló válaszban.

- Ennek kapcsán megvizsgáltuk a feltételezett  $P2Y_1$  antagonist MRS 2179 hatásait is humán vékonybél körkörös izom preparátumokon.

3. Tanulmányoztuk a VIP- és kapszaicin-tachyphylaxia hatását emberi szigmbél körkörösizom NANC válaszaiban annak eldöntésére, vajon VIP, illetve szenzoros neuropeptidek (és esetleg más szenzoros transzmitterek) szerepet játszanak-e ebben a válaszban.

Kísérleteink során az ingerület-átvivő anyagok azonosításának kritériumai közül „a hatás azonosságát” előfeltételnek, „az antagonizmus azonosságát” pedig perdöntőnek tekintettük. Vizsgálatainkat kísérleti állatokból és humán operációs anyagból származó készítményeken végeztük. A humán szövetek tanulmányozására a PTE Sebészeti Klinikával történő kollaborációnk biztosított lehetőséget.

A következőkben az egyes kísérletsorozatokat részletesen tárgyalom.

## Kísérletes rész

### 1. fejezet

#### **Az ATP és $\alpha,\beta$ -metilén ATP ( $\alpha,\beta$ -meATP) hatásainak vizsgálata tengerimalac ileumon**

##### **Bevezetés**

Az enterális idegrendszerben a nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) válaszok jelentős részét nitrogén-monoxid (NO) hozza létre. Emellett gyakran felvetődik a „purinerg” idegek közvetítő szerepe (ld. Burnstock, 1972, 1990 és 1997; Lecci és mtsai, 2002; Vizi, 1979). Az  $\alpha,\beta$ -metilén ATP ( $\alpha,\beta$ -meATP) az ATP-nek egy nagyobb metabolikus stabilitással rendelkező analógja. Agonista spektruma a különböző purinoceptorokon ugyan némiképp eltér az ATP-étől (Lambrecht, 2000), mégis az  $\alpha,\beta$ -meATP az egyik leggyakrabban használt szer a „purinerg” mechanizmusok vizsgálatára különféle preparátumokon (Lambrecht, 2000; Ralevic és Burnstock, 1998), mivel amellett, hogy stimulálja a  $P_{2X}$  receptorok néhány altípusát, erőteljes tachyphylaxiát képes kiváltani ezeken a receptorokon. Utóbbi hatását aknázzák ki az endogén ATP neurotransmitter szerepének bizonyításában számos esetben, pl. húgyhólyagon is (Ralevic és Burnstock, 1998).

Kevesebb adat áll rendelkezésre purinoceptor antagonisták hatásáról a NANC és más válaszokra. Tengerimalac vékonybélén Barthó és mtsai (1997) adatai szerint az ATP részt vesz az elektromos téringerléssel kiváltott kolinerg kontrakciókban, amit a  $P_2$  purinoceptor antagonistá piridoxálfoszfát-6-azofenil-2'-4'-diszulfonsav (PPADS) és suramin kontrakciós válaszokra kifejtett gátló hatása bizonyított. A nyálkahártya mechanikai ingerlésével kiváltott fel- és leszálló izgató válaszokról kimutatták, hogy részben összefüggésbe hozható PPADS-érzékeny purinoceptorok aktivációjával (Spencer és mtsai, 2000). Munkacsoportunk korábbi eredményei szerint a PPADS specifikus gátló hatással rendelkezik a  $P_2$  purinoceptorokon keresztül kiváltott izgató vagy gátló válaszokra különféle tengerimalac gasztrointesztinális preparátumokon (Barthó és mtsai, 1997, 1998, 2000), ami az ATP vagy valamely rokon vegyület neurotransmitter szerepét támasztja alá. Az ATP szerepet játszik a nyomásinger

(sugárirányú feszítés) által kiváltott perisztaltikus reflexben (Heinemann és mtsai, 1999), de hatásának kikapcsolása nem gátlást, hanem mérsékelt izgató hatást eredményez.

Mivel az endogén ATP szerepéről változatos eredmények születtek tengerimalac vékonybélén végzett kísérletek során, ezért *jelen kísérletsorozatunk célja az exogén ATP összetett motoros hatásainak vizsgálata volt.* Úgy gondoljuk, hogy a fő kérdés nem az, hogy mely típusú purinoceptorok mediálják az ATP hatásait, hanem az, hogy találjunk egy olyan módszert, ami lehetőleg az ATP összes hatását gátolja. Egy ilyen „széles spektrumú” antagonizmus segíthet annak a kérdésnek az eldöntésében, vajon részt vesznek-e „purinerg” idegek a különböző ideg-mediált válaszokban.

Számos tanulmány foglalkozott az exogén ATP tengerimalac vékonybél hosszanti izomzatán kifejtett hatásával. Kimutatták, hogy az ATP atropin- és tetrodotoxin- (TTX) rezisztens kontrakciót okoz ezen a szervén (Kennedy és Humphrey, 1994; Moody és Burnstock, 1982; Watt, 1982; Wilklund és Gustaffson 1988a,b). Mivel az endogén ATP-nek szerepe lehet az enterális neuronokból történő acetyl-kolin felszabadulásban is (Barthó és mtsai, 1997; Spencer és mtsai, 2000; ld. előbb) a jelen tanulmányban jellemeztük az exogén ATP összetett hatásait tengerimalac ileum hosszanti izomzatán, valamint *megpróbáltuk feltérképezni az ezen hatások hátterében álló mechanizmusokat.* A már említett, tengerimalac ileumon ingerléssel kiváltott kolinerg kontrakció PPADS-sel történő részleges gátlása nyomán a jelen tanulmányban ezt a problémakört  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia kiváltásával is alátámasztottuk. A PPADS specifikussági vizsgálatát kiterjesztettük az anyag magas koncentrációjára (300  $\mu\text{mol/l}$ ), exogén acetyl-kolint vagy hisztamint használva spazmogénként.

Továbbá *kísérleteket végeztünk az  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia mértékének meghatározására, valamint az  $\alpha,\beta$ -meATP izgató hatásának hátterében álló mechanizmusok tisztázására is tengerimalac ileumon.* Azt is *megvizsgáltuk, vajon képes-e a  $P_2$  purinoceptor antagonista PPADS antagonizálni ezen ATP analóg hatásait.* Az  $\alpha,\beta$ -meATP hatását tengerimalac ileumon már több tanulmány is vizsgálta, de az irodalomban némi ellentmondás is fellelhető. A legtöbb szerző egyetért abban, hogy ez az anyag a plexus myentericus izgató motoneuronjainak stimulálásával kolinerg kontrakciót okoz (Barthó és mtsai, 1997, 1999a; Kennedy és Humphrey, 1994; Moody és Burnstock, 1982; Matsuo és mtsai, 1997; Sawyer és mtsai, 2000), míg Wilklund és Gustaffson 1988-ban leírták, hogy sem a szkopolamin, sem a tetrodotoxin nem

befolyásolja az  $\alpha,\beta$ -meATP kontrakciós hatását. Neurokémiai vizsgálatok fokozott mértékű acetil-kolin felszabadulást mutattak ki  $\alpha,\beta$ -meATP hatására elektromosan stimulált plexus myentericusból (Sperlágh és Vizi, 1991).

Az  $\alpha,\beta$ -meATP hatását közvetítő *purinoceptorok altípusainak feltérképezésére tett kísérleteink* során megvizsgáltuk a válasz érzékenységet a  $P2X_{1,2,3}$  purinoceptor antagonistá NF 279-re (Damer és mtsai, 1998; DeMan és mtsai, 2003; Rettinger és mtsai, 2000) és a  $P2X_{5,7}$  antagonistá Brilliant blue G-re nézve, mely utóbbi anyagról ismert, hogy  $P2X_2$  és humán  $P2X_4$  receptorok iránti affinitása is van (Bo és mtsai, 2003; Jiang és mtsai, 2000; King és mtsai, 1997).

## **Módszerek és anyagok**

### *Kísérleti protokoll*

A kísérletekhez 300-460 g súlyú, mindkét nemű albinó tengerimalacokat használtunk, mivel a megelőző vizsgálat (Barthó és mtsai, 1997) szintén ezen a (Dunkin-Hartley) törzsön történt. Az állatokat telített étergőzben elaltattuk és dekapitációval leöltük. A kb. 2 cm hosszú teljes vékonybél készítményeket 5 ml-es szervfürdőben, 37 °C-os, oxigenizált (95 %  $O_2$ , 5 %  $CO_2$ ) Krebs-Henseleit oldatban függesztettük fel (1. kép). A hosszanti irányú elmozdulásokat izotóniás jelátalakítóval és híderősítő (Hugo Sachs/Harvard Apparatus, B40 type 373) segítségével kompenzográfon illetve számítógépes programmal (S.P.E.L. Isosys, Experimetria, Budapest) regisztráltuk. 6 mN feszítést alkalmaztunk. A kísérleteket 1 óra inkubáció után kezdtük. Az idegeket elektromos téringerléssel (Paton és Vizi, 1969) aktiváltuk a szervfürdőben alul és fölül elhelyezett két platina elektród segítségével (távolságuk 4 cm). Az ingerléshez ST-02 nagy teljesítményű elektromos stimulátort alkalmaztunk (Experimetria, Budapest). Az elektromos téringerlés paraméterei: amplitúdó 70 V, impulzusszélesség 0,1 ms, 5 Hz frekvencia, 5 s-os ingersorozatok. Az ATP által kiváltott relaxáló hatás tanulmányozása atropinnal (1  $\mu$ mol/l) és guanetidinnel (3  $\mu$ mol/l) előkezelt, hisztaminnal (0,1  $\mu$ mol/l) előkontrahált preparátumokon történt. ATP adást követően a szervfürdőben lecseréltük a folyadékot, és 30 perc inkubáció következett.



*1. kép. Kísérleti elrendezés: szervfürdő és jelátalakító képe felfüggesztett készítménnyel*

### *Alkalmazott anyagok*

Acetil-kolin-klorid, apamin, adenzin-5'-trifoszfát (ATP), atropin-hidroklorid, brilliant blue G,  $\omega$ -konotoxin GVIA, guanetidin-szulfát, hexametónium-bromid, hisztamin-hidroklorid, kapszaicin,  $\alpha,\beta$ -metilén-adenozin-5'-trifoszfát ( $\alpha,\beta$ -meATP), naloxon-hidroklorid, nikotin-hidrogén-tartarát, N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin (L-NOARG), piridoxál-foszfát-6-azofenil-2',4'-szulfonsav (PPADS), reactive blue 2, teofillin, tetrodotoxin (TTX) (Sigma); NF 279 (Tocris).

### *A kontaktusidők az alábbiak voltak:*

Apamin, atropin, brilliant blue G,  $\omega$ -konotoxin GVIA, hexametónium, naloxon, NF 279, L-NOARG, PPADS, reactive blue 2, tetrodotoxin: 20-30 perc; guanetidin: minimum 45 perc; kapszaicin- (10  $\mu$ mol/l) ill.  $\alpha,\beta$ -meATP (10  $\mu$ mol/l) tachyphylaxia létrehozására 15 perc; ATP,  $\alpha,\beta$ -meATP, acetil-kolin, hisztamin (rövid tartalmú kontrakció létrehozására) 3 perc; nikotin: 2 perc; hisztamin: alapvonal tónusos emelésére: 10-12 perc.

### *Statisztikai módszerek*

A kontrakciós válaszok nagyságát a kísérlet végén hisztaminnal (10  $\mu$ mol/l) kiváltott maximális összehúzóds százalékában adtuk meg. A relaxációs válaszok mértékét az előkontrakciót megelőző alapvonalhoz, mint 100 %-os relaxációhoz viszonyítottuk. A válaszoknak csak az amplitúdóját értékeltük. Az adatokat átlag  $\pm$  S.E.M. formájában adtuk meg. A statisztikai összehasonlításokat Wilcoxon teszt (2 összefüggő minta esetén) és Quade teszt (több összefüggő minta esetén) segítségével végeztük, és  $p < 0,05$  vagy kisebb valószínűséget tekintettünk szignifikánsnak.

## Eredmények

### *I. Az ATP motoros hatásai tengerimalac ileumon*

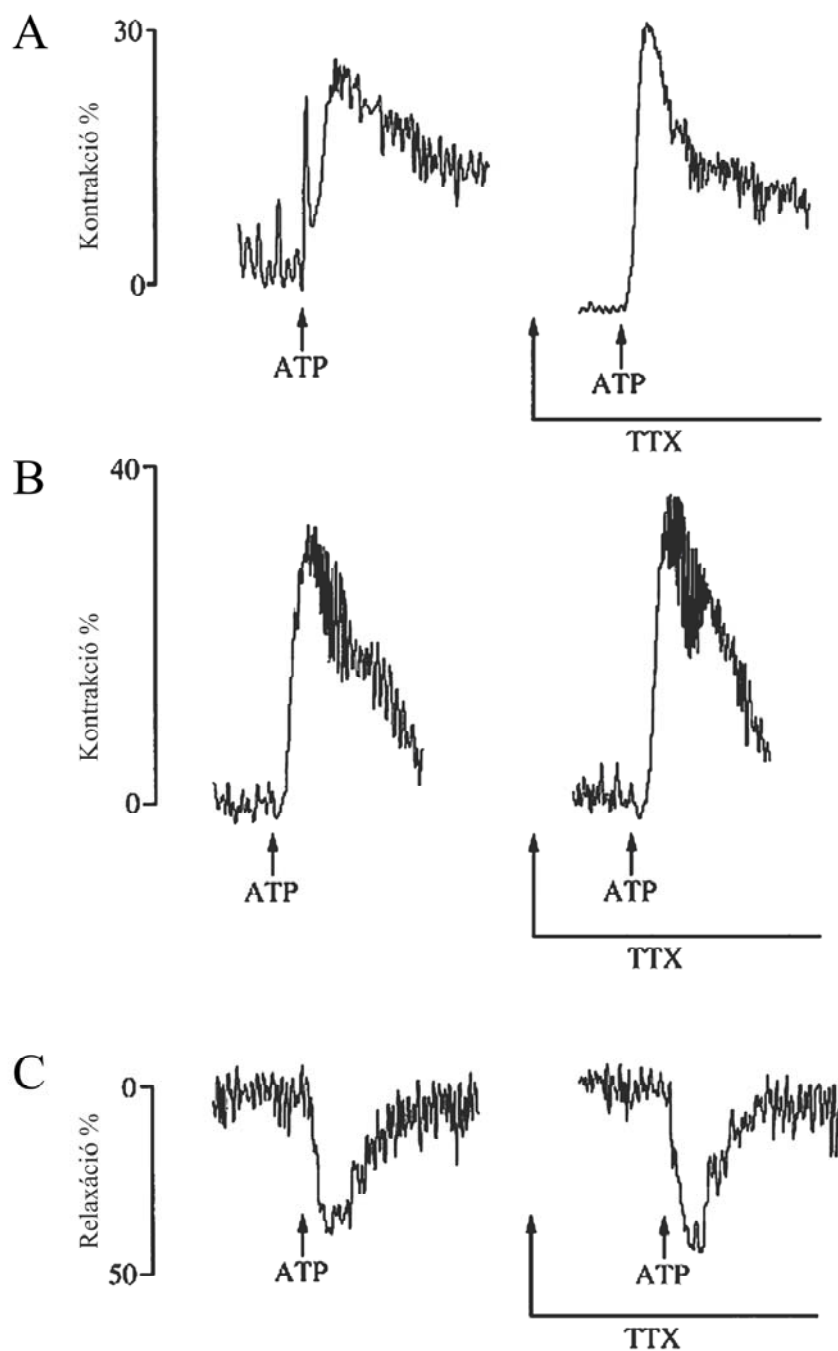
Az ATP hatásait a nem-szelektív P<sub>1</sub> purinoceptor antagonista teofillin (0,1 mmol/l) jelenlétében vizsgáltuk. Alacsony koncentrációban (1-10 µmol/l) az ATP a spontán mozgások átmeneti gátlását, illetve kis mértékű relaxációt okozott. Magasabb koncentrációban (30 µmol/l-3 mmol/l) az ATP két fajta kontrakciót hozott létre: (a) 28/80 esetben *fázikus kontrakciót* okozott. A válasz az ATP beadását követő 1-2 másodpercen belül kezdődött, és a csúcsát további két másodpercen belül érte el. A választ relaxáció nem előzte meg. Ezen válaszok többségénél lassú kontrakció (csúcs: 15-30 másodperc múlva) is létrejött, amely a fázikus kontrakciót követően akkor jelent meg, amikor a preparátum tónusa részlegesen vagy teljesen visszatért az alapvonalra. Ez a második kontrakció 2 percen belül lezajlott. Az ATP ismételt beadása (30 perces intervallumokban) során a fázikus kontrakció mértéke mérsékelten emelkedett, 2-3 beadás után stabilizálódott. (A fent említett preparátumok száma az ATP harmadik beadására vonatkozik). (b) Néhány preparátumon a fázikus kontrakciót nem tudtuk kiváltani a vizsgált koncentrációval (1 mmol/l-ig), de jelen volt egy *tónusos kontrakció*, mely a csúcértéket 10-30 másodperc alatt érte el. Ez a kontrakció (és valószínűleg a fent leírt válasz lassú fázisa) feltehetően megegyezik a Moody és Burnstock, illetve Watt által 1982-ben leírt válasszal. A tónusos kontrakció az ATP beadását követő 1,5-3 perc alatt lezajlott, és kimosás után egy 30 perces kimosási periódust követően reprodukálható volt. Minden állatból 2-5 preparátumot készítettünk. Nem volt egyértelmű összefüggés az azonos állatból származó preparátumok és a kontrakció típusa között. Egyféle kísérlethez azonos állatból legfeljebb 2 preparátumot használtunk.

Az ATP lehetséges relaxáló hatását atropinnal és guanetidinnel előkezelt, hisztaminnal előkontrahált preparátumokon vizsgáltuk. Az ATP minden preparátumon relaxáló hatást váltott ki. Az ATP küszöbkoncentrációja 0,3-0,5 µmol/l volt (n=4) és 10 µmol/l ATP maximális hatást okozott. Kilenc kontroll kísérletben, ahol 1, 10 és 100 µmol/l ATP-t adtunk 30 perces időközökben, a relaxáció mértéke  $16,6 \pm 2,8$ ;  $46,9 \pm 6$  és  $50,7 \pm 5,1$  %-os volt (hisztamin előtti alapvonalat tekintve 100 %-nak). A preparátumok tónusa még az ATP jelenlétében 25-50 másodperc alatt visszatért a beadás előtti szintre. Az 500 µmol/l ATP hatására létrejövő relaxáló hatás kisebb volt, mint a 100 µmol/l-es



koncentrációval kiváltott elernyedés mértéke. Az elernyedés csak néhány másodpercig tartott, és az előkontrahált preparátumok meglehetősen magas tónusának ellenére kontrakció követte (n=4). Az ATP motoros hatásait a 3. ábra mutatja be.

Az ugyanakkora dózisú ATP kimosás nélkül történő ismételt beadása 1-3 perccel az első expozíciót követően (amikor az első beadás hatása már elmúlt) hatástalan volt a fázikus kontrakciót (n=4) és a relaxációt tekintve (100  $\mu\text{mol/l}$  ATP esetében; n=7). ATP ismételt beadása jelentősen kisebb relaxációt váltott ki 10  $\mu\text{mol/l}$ -es ATP koncentrációnál ( $73,6 \pm 6,3$  %-os csökkenés, n=9). A tónusos kontrakció (n=4) illetve az 1  $\mu\text{mol/l}$  ATP hatására létrejövő relaxáció alig vagy egyáltalán nem volt kisebb a második beadás alkalmával. Valószínűnek tartjuk, hogy azokban az esetekben, amikor a második beadás is hatásos volt, inkább az ATP lebomlása, míg ellenkező esetben inkább ATP-tachyphylaxia lehet felelős az első beadás hatásának lecsengéséért.

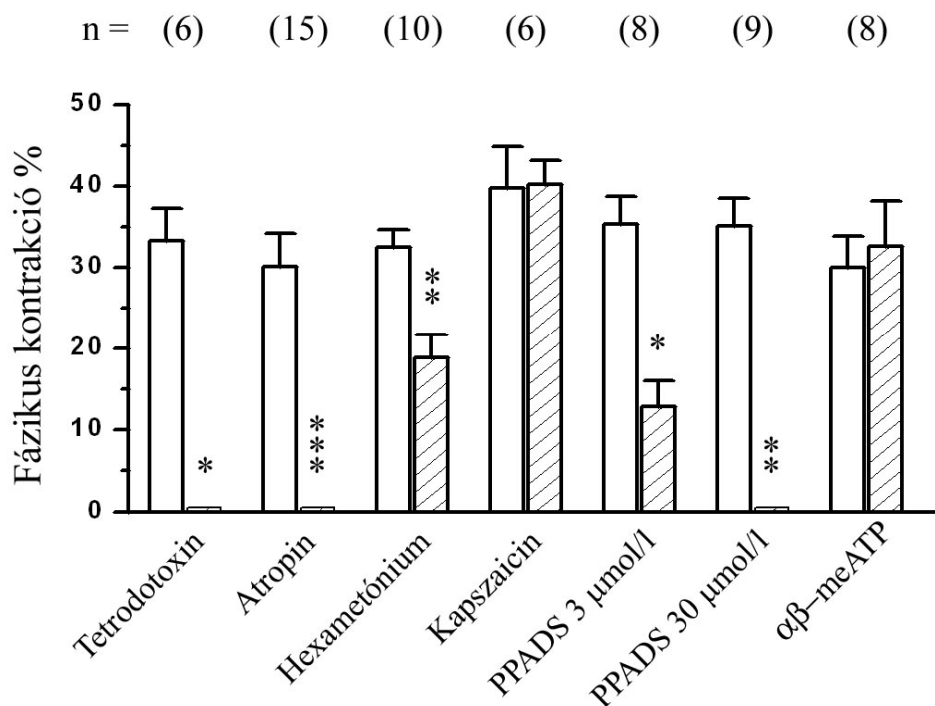


**3.ábra A, B, C.** Eredeti regisztrátumok, amelyek az ATP motoros hatásait mutatják be tengerimalac vékonybél preparátumon tetrodotoxin (TTX, 0,5  $\mu\text{mol/l}$ ) előtt és TTX jelenlétében. **A:** ATP-vel (300  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott fázikus és tónusos kontrakció. **B:** ATP-vel (300  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott primer tónusos kontrakció. **C:** ATP (10  $\mu\text{mol/l}$ ) hatására létrejövő relaxáció atropinnal (1  $\mu\text{mol/l}$ ) és guanetidinnel (3  $\mu\text{mol/l}$ ) előkezelt, hisztaminnal (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ) szubmaximálisan előkontrahált preparátumon. Minden regisztrátum az ATP-vel kiváltott válasz egy perces időtartamát ábrázolja. Függőleges kalibráció: **A, B:** a hisztaminnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális kontrakció %-a, **C:** relaxáció mértéke a hisztaminnal kiváltott előkontrakció előtti alapvonalhoz (100 %-os relaxáció) viszonyítva.

## II. Az ATP-okozta mozgásválaszok farmakológiai elemzése

### 1. Fázikus kontrakció

Miután a pontos ATP koncentráció kiválasztása megtörtént, addig ismételtük az ATP beadását, amíg stabil kontroll válaszokat nem kaptunk. Ezt követően történt a preparátum előkezelése különböző anyagokkal. A 300-500  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációjú ATP-vel kiváltott fázikus kontrakciót atropin (1  $\mu\text{mol/l}$ ) és TTX (0,5  $\mu\text{mol/l}$ ) teljesen gátolta, hexametónium (50  $\mu\text{mol/l}$ ) csökkentette, de kapszaicin tachyphylaxia (10  $\mu\text{mol/l}$  10 percig, melyet kimosás után 40 perces nyugalmi periódus követett) nem befolyásolta (4. ábra). PPADS (30  $\mu\text{mol/l}$ ) gátolta a fázikus kontrakciót. A PPADS alacsonyabb koncentrációban (3  $\mu\text{mol/l}$ ) is jelentősen csökkentette a választ.  $\alpha,\beta\text{-meATP}$  (10  $\mu\text{mol/l}$ ) tachyphylaxia nem befolyásolta a fázikus kontrakciót (4. ábra).



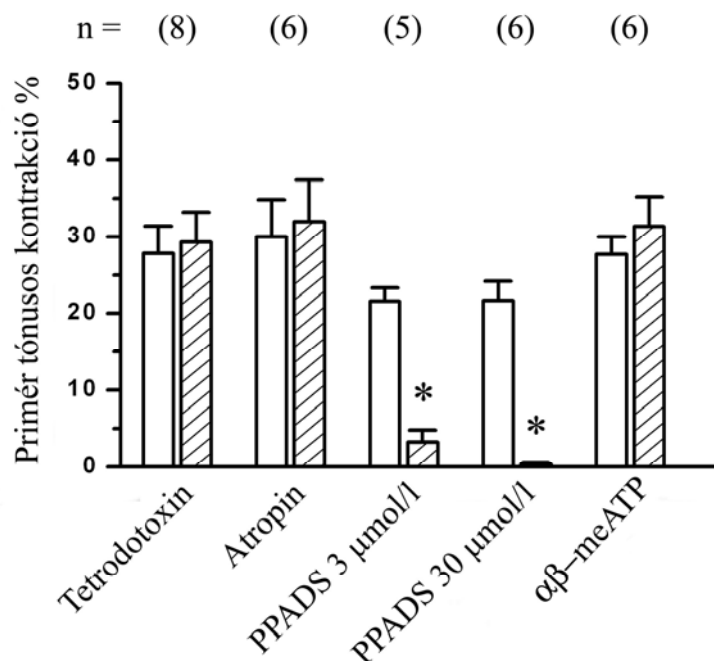
**4. ábra** Különböző anyagok hatása (csíkozott oszlopok) tengerimalac ileumon a 300-500  $\mu\text{mol/l}$  ATP hatására létrejövő fázikus kontrakcióra. Az üres oszlopok az anyagbeadás előtti kontroll válaszokat ábrázolják. Átlag  $\pm$  S.E.M; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  (Wilcoxon teszt). A kapszaicin tachyphylaxia kiváltása 10  $\mu\text{mol/l}$  kapszaicin 10 percig történő alkalmazásával történt, melyet kimosás után egy 40 perces nyugalmi periódus követett. Az  $\alpha,\beta\text{-meATP}$ -t 15 percre adtuk be, kimosás nélkül.  $n =$  a kísérletek száma. Függőleges kalibráció: hisztaminnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális összehúzódás %-a.

## 2. Tónusos kontrakció

Az anyagok hatásának vizsgálata két stabil kontroll választ követően történt. Az ATP-vel kiváltott tónusos kontrakciót atropin, TTX vagy  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia (10  $\mu\text{mol/l}$ ) nem gátolta, PPADS (30  $\mu\text{mol/l}$ ) teljesen kivédte, 3  $\mu\text{mol/l}$  PPADS pedig erősen gátolta (5. ábra). Hexametónium (50  $\mu\text{mol/l}$ ) nem befolyásolta az ATP hatását. Az ATP hatására létrejövő tónusos kontrakciót  $\omega$ -konotoxin GVIA (N-típusú  $\text{Ca}^{++}$ -csatorna blokkoló; 0,5  $\mu\text{mol/l}$ ,  $n=4$ ) nem gátolta.

A kezdeti fázikus kontrakciót követő tónusos kontrakció ugyanolyan farmakológiai érzékenységet mutatott atropin ( $n=12$ ), hexametónium ( $n=8$ ), tetrodotoxin ( $n=6$ ), kapszaicin ( $n=5$ ), PPADS ( $n=7$ , ill. 8) és  $\alpha,\beta$ -meATP ( $n=5$ ) előkezelésre, mint a primer tónusos kontrakció.

Az atropin (1  $\mu\text{mol/l}$ ) vagy TTX (0,5  $\mu\text{mol/l}$ ) jelenlétében ATP-vel (300-500  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott kontrakció mindig tónusos karakterű volt. Az atropin-rezisztens tónusos kontrakciót PPADS erősen gátolta (3  $\mu\text{mol/l}$  PPADS  $26,8 \pm 3,6$  %-ról  $3,8 \pm 2,2$  %-ra csökkentette,  $n=5$ ; 30  $\mu\text{mol/l}$  PPADS  $22,8 \pm 2,2$  %-ról 0 %-ra gátolta,  $n=6$ ). Bár néhány preparátumon a TTX mérsékelt gátló hatást fejtett ki atropin jelenlétében az ATP-vel kiváltott kontrakcióra, az egész csoportot tekintve a gátlás mértéke nem érte el a szignifikáns szintet ( $28,1 \pm 3,1$  %-os kontrakció előtte és  $26,1 \pm 3,5$  %-os kontrakció tetrodotoxin jelenlétében,  $n=12$ ). A tetrodotoxin-rezisztens tónusos kontrakciót PPADS erősen gátolta (3  $\mu\text{mol/l}$  PPADS  $31,4 \pm 2,6$  %-ról  $8,4 \pm 2,7$  %-ra csökkentette,  $n=5$ ; 30  $\mu\text{mol/l}$  PPADS  $28,2 \pm 2,9$  %-ról  $4,8 \pm 2,7$  %-ra gátolta,  $n=6$ ).



**5. ábra** Farmakonok befolyása (csíkozott oszlopok) tengerimalac ileumon a 300-500 µmol/l ATP hatására létrejövő primer tónusos kontrakcióra. Az üres oszlopok az anyagbeadás előtti kontroll válaszokat ábrázolják. Átlag ± S.E.M; \* $p < 0,05$  (Wilcoxon teszt). Függőleges kalibráció: hisztaminnal (10 µmol/l) kiváltott maximális összehúzódás %-a; n=a kísérletek száma.

### 3. Az ATP hatására létrejövő relaxáció

Az ATP-vel kiváltott relaxációt tetrodotoxin (0,5 µmol/l) nem befolyásolta. Apamin ( $\text{Ca}^{2+}$ -függő  $\text{K}^{+}$ -csatorna blokkoló; 1 µmol/l) teljes, irreverzibilis gátló hatást fejtett ki 1 µmol/l - 100 µmol/l koncentrációjú ATP hatására létrejövő relaxációra (n=4-7). PPADS (30 µmol/l) gátolta a relaxációt (1. táblázat). A PPADS hatása az ATP koncentráció emelésével áttörhetőnek bizonyult. Reactive blue 2 (10 µmol/l) gátló hatása hasonló jellegzetességeket mutatott. A nitrogén-monoxid szintáz gátló L-NOARG (100 µmol/l) és az N-típusú feszültség-függő  $\text{Ca}^{2+}$ -csatorna blokkoló  $\omega$ -konotoxin GVIA (0,5 µmol/l) együtt történő alkalmazása nem befolyásolta a 10 µmol/l ATP hatására létrejövő relaxációt ( $47,3 \pm 8,4$  % előtte,  $56,1 \pm 11,8$  %-os relaxáció az anyagok beadása után, n=4). Az apamin (0,1 µmol/l) nem befolyásolta a hisztaminnal kiváltott kontrakciót (n=6).

**1. táblázat** Különböző anyagok hatása tengerimalac ileumon 1, 10 és 100  $\mu\text{mol/l}$  ATP hatására létrejövő relaxációra. A preparátumokat hisztaminnal (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ) szubmaximálisan előkontraháltuk, a válaszokat a hisztamin előkontrakció előtti alapvonalhoz (100 %) viszonyított elernyedés %-ában adtuk meg. Átlag  $\pm$  S.E.M; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  (Wilcoxon teszt). n=a kísérletek száma.

Előkezelés	kontroll válasz (%)	előkezelés utáni válasz (%)	n
Tetrodotoxin (0,5 $\mu\text{mol/l}$ )			
ATP 1 $\mu\text{mol/l}$	30,0 $\pm$ 6,0	27,4 $\pm$ 6,3	7
ATP 10 $\mu\text{mol/l}$	47,5 $\pm$ 5,9	45,6 $\pm$ 6,3	8
ATP 100 $\mu\text{mol/l}$	51,2 $\pm$ 5,8	46,0 $\pm$ 5,3	5
PPADS (30 $\mu\text{mol/l}$ )			
ATP 1 $\mu\text{mol/l}$	31,3 $\pm$ 4,7	3,0 $\pm$ 1,2 **	6
ATP 10 $\mu\text{mol/l}$	55,3 $\pm$ 6,2	23,9 $\pm$ 9,1 **	8
ATP 100 $\mu\text{mol/l}$	54,2 $\pm$ 6,9	36,3 $\pm$ 11,5	6
Reactive blue 2 (10 $\mu\text{mol/l}$ )			
ATP 1 $\mu\text{mol/l}$	25,0 $\pm$ 3,5	2,6 $\pm$ 1,7 *	5
ATP 10 $\mu\text{mol/l}$	49,3 $\pm$ 2,4	31,7 $\pm$ 5,4 *	7
ATP 100 $\mu\text{mol/l}$	35,6 $\pm$ 7,4	29,8 $\pm$ 5,4	5

*PPADS nem befolyásolja a hisztaminnal és acetil-kolinnal kiváltott kontrakciót tengerimalac ileumon*

A PPADS (30  $\mu\text{mol/l}$  - 300  $\mu\text{mol/l}$ ) nem befolyásolta a hisztaminnal (0,1-0,3  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott fél-maximális kontrakciót. Az acetil-kolin (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ) hatását szintén nem befolyásolta a PPADS (300  $\mu\text{mol/l}$ ) (lásd 2. táblázat).

**2. táblázat** PPADS hatása a hisztaminnal és acetil-kolinnal kiváltott kontrakciókra tengerimalac ileumon. Átlag  $\pm$  S.E.M; n=a kísérletek száma.

Előkezelés	kontroll válasz (%)	előkezelés utáni válasz (%)	n
<i>Hisztaminnal (0,1-0,3 <math>\mu</math>mol/l) kiváltott kontrakció</i>			
PPADS 30 $\mu$ mol/l	50,3 $\pm$ 3,4	50,9 $\pm$ 3,4	9
PPADS 300 $\mu$ mol/l	64,8 $\pm$ 3,0	66,6 $\pm$ 1,5	5
<i>Acetil-kolinnal (0,1 <math>\mu</math>mol/l) kiváltott kontrakció</i>			
PPADS 300 $\mu$ mol/l	62,8 $\pm$ 10,5	65,6 $\pm$ 9,6	5

### III. $\alpha,\beta$ -meATP hatására létrejött motoros hatások tengerimalac ileumon

Az  $\alpha,\beta$ -meATP (1-30  $\mu$ mol/l) koncentráció-függő *kontrakciót* okozott tengerimalac ileumon (lásd 6. és 7. ábra kontroll válaszok). A motoros válasz minden koncentrációnál 4-6 másodpercen belül elérte a csúcsát. Míg az 1-10  $\mu$ mol/l koncentráció hatására létrejött válaszok 15-20 másodperc alatt eltűntek, a 30  $\mu$ mol/l  $\alpha,\beta$ -meATP-vel kiváltott összehúzódnak volt egy kisebb tartós fázisa, ami azonban a különféle szerek iránti érzékenységében nem tért el a gyors kontrakciótól. *Relaxáló hatást* atropinnal előkezelt, előkontrahált preparátumokon az  $\alpha,\beta$ -meATP nem váltott ki 1-30  $\mu$ mol/l koncentráció tartományban (n=4-5 különböző koncentrációkban).

Az  $\alpha,\beta$ -meATP (1, 3, 10 vagy 30  $\mu$ mol/l) motoros hatását a Na<sup>+</sup>-csatorna blokkoló tetrodotoxin (0,5  $\mu$ mol/l, n=5-7) vagy a széles spektrumú muszkarinreceptor antagonistá atropin (1  $\mu$ mol/l, n=6-12) teljesen kivédte. Az  $\alpha,\beta$ -meATP-vel (30  $\mu$ mol/l) kiváltott válasz tartós fázisát is teljesen gátolta az atropin és a tetrodotoxin (n=4 mindkét szer esetén). A ganglionblokkoló hexametónium (50  $\mu$ mol/l) nem befolyásolta az  $\alpha,\beta$ -meATP (3 vagy 10  $\mu$ mol/l, n=8 mindkét esetben) kontrakciós hatását. Az  $\alpha,\beta$ -meATP (3-30  $\mu$ mol/l) kontrakciós hatását a P<sub>2</sub> purinoceptor antagonistá PPADS (30  $\mu$ mol/l) erősen gátolta (6. ábra). A P2X<sub>1-3</sub> receptorokon ható purinoceptor antagonistá NF 279 koncentráció-függő módon csökkentette az  $\alpha,\beta$ -meATP (3  $\mu$ mol/l) kontrakciós hatását; 1  $\mu$ mol/l NF 279 nem hatott (n=5), 10  $\mu$ mol/l NF 279 61,3  $\pm$  5,8 %-ról 40,2  $\pm$  7,5 %-ra

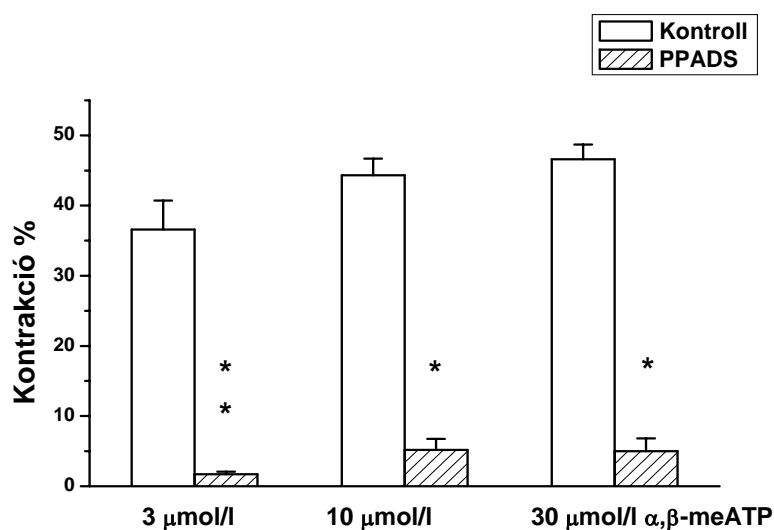
( $n=5$ ,  $p<0,05$ ) csökkentette a válaszokat; míg  $30\ \mu\text{mol/l}$  NF 279  $61,4 \pm 4,8\ \%$ -ról  $3,0 \pm 3,0\ \%$ -ra gátolta őket. A hisztaminnal kiváltott fél-maximális összehúzódot nem gátolta NF 279 ( $30\ \mu\text{mol/l}$ ,  $n=5$ ). A brilliant blue G ( $10$  vagy  $30\ \mu\text{mol/l}$ ) nem befolyásolta az  $\alpha,\beta$ -meATP ( $3\ \mu\text{mol/l}$ ) kontrakciós hatását ( $n=3$ ).

#### *IV. $\alpha,\beta$ -meATP-vel kiváltott tachyphylaxia vizsgálata tengerimalac ileumon*

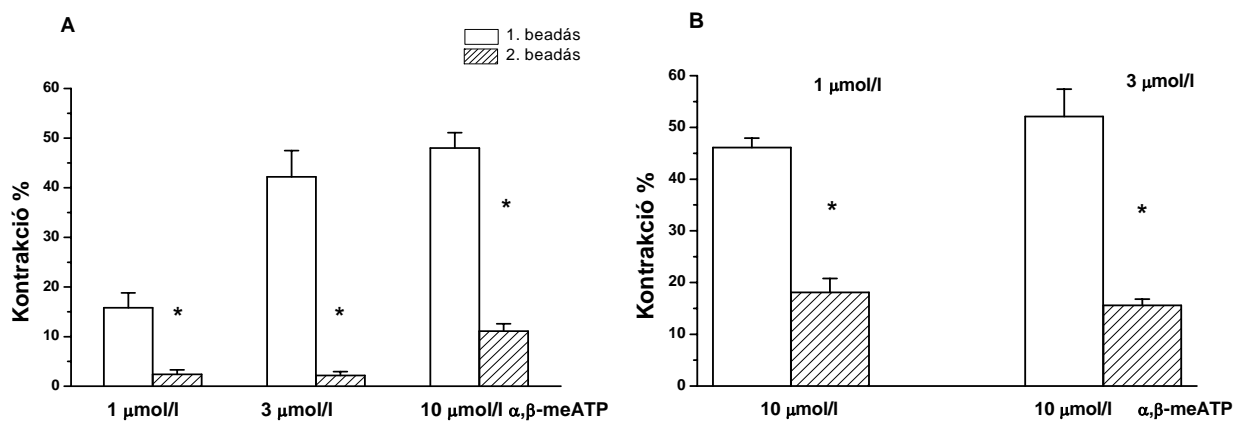
Kísérleteket végeztünk az  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia mértékének meghatározására. Azt találtuk, hogy még a legkisebb vizsgált koncentráció ( $1\ \mu\text{mol/l}$ ) is erősen gátolta az ugyanolyan koncentrációjú, vagy akár a  $10\ \mu\text{mol/l}$   $\alpha,\beta$ -meATP-okozta összehúzódot (kimosás nélkül,  $15$  perc múlva ismételtük az  $\alpha,\beta$ -meATP adását). Már a legkisebb ( $1\ \mu\text{mol/l}$ )  $\alpha,\beta$ -meATP-vel is kiváltható kb. ugyanolyan mértékű tachyphylaxia, mint  $3$ , vagy akár  $10\ \mu\text{mol/l}$  adásával (lásd 7. ábra A, B).

Az  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia ( $1$ - $10\ \mu\text{mol/l}$ )  $20$  perces kimosás után teljesen reverzibilisnek bizonyult ( $n=6$  ill.  $12$ ). Sem az  $\alpha,\beta$ -meATP kontrakciós hatását, sem a tachyphylaxiát nem befolyásolta az adrenerg neuron blokkoló guanetidin ( $3\ \mu\text{mol/l}$ ), a széles spektrumú opioid receptor antagonistá naloxon ( $0,5\ \mu\text{mol/l}$ ), valamint a NOS gátló L-NOARG ( $100\ \mu\text{mol/l}$ ) kombinációja ( $n=5$ ).





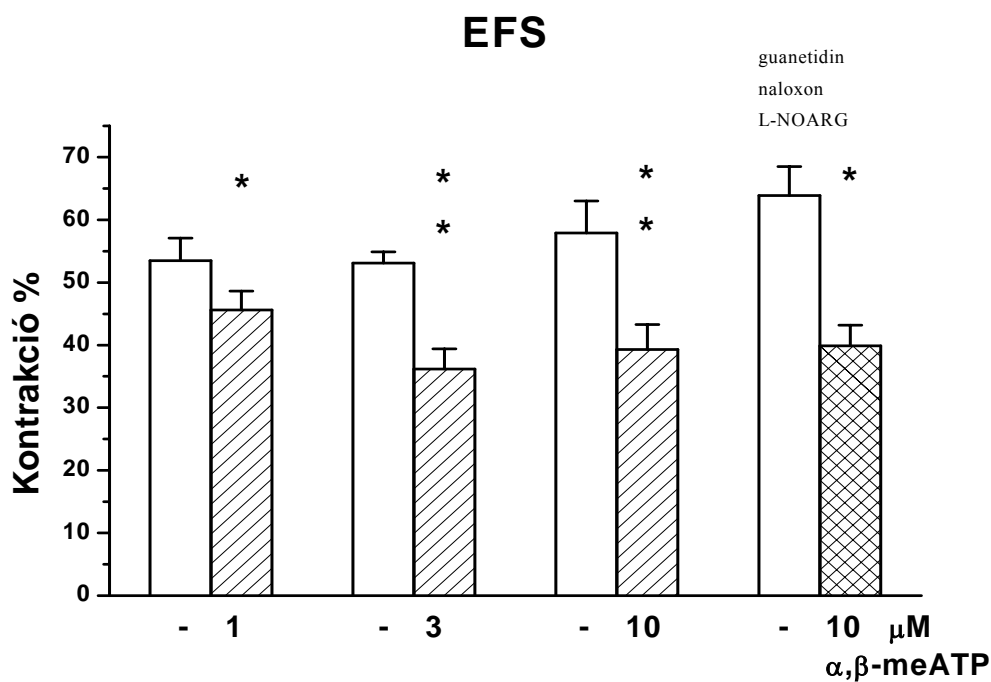
**6. ábra** PPADS (30  $\mu\text{mol/l}$ ) gátló hatása (csíkozott oszlopok) az  $\alpha, \beta$ -meATP (3-30  $\mu\text{mol/l}$ ) által kiváltott kontrakciókra (üres oszlopok) tengerimalac ileumon. Átlag  $\pm$  S.E.M. Függőleges kalibráció: hisztaminnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális összehúzódás %-a;  $n=6-7$ ; \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$  (Wilcoxon teszt).



**7. ábra A:**  $\alpha, \beta$ -meATP (1-10  $\mu\text{mol/l}$ ) hatására létrejövő ileum kontrakciók (üres oszlopok: első beadás). Az anyagbeadást 15 perccel később megismételtük kimosás nélkül (csíkozott oszlopok). **B:**  $\alpha, \beta$ -meATP (10  $\mu\text{mol/l}$ ) hatása 1-3  $\mu\text{mol/l}$   $\alpha, \beta$ -meATP előtt (üres oszlopok) ill. jelenlétében (csíkozott oszlopok), kontaktusidő: 20 perc. Átlag  $\pm$  S.E.M. Függőleges kalibráció: hisztaminnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális összehúzódás %-a;  $n=5-7$ ; \* $p<0,05$  (Wilcoxon teszt).

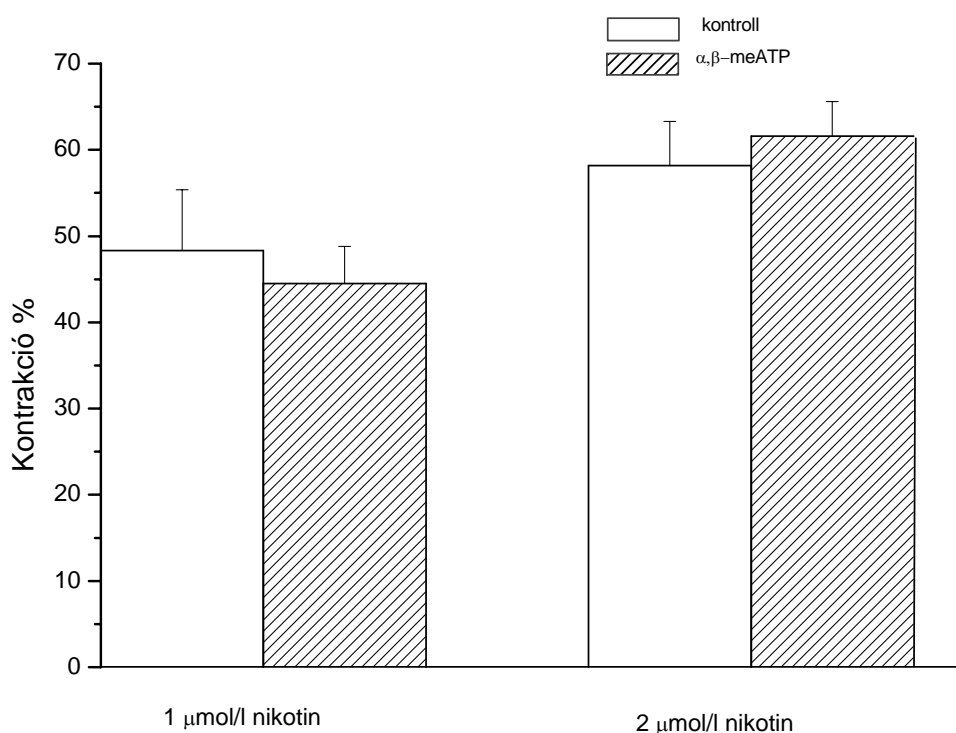
V.  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia hatása az ideg-közvetítette ileum kontrakciókra

Az  $\alpha,\beta$ -meATP (1-10  $\mu\text{mol/l}$ , 20 percre beadva kimosás nélkül) mérsékelten gátolta az elektromos téringerléssel kiváltott (döntően kolinerg) választ (lásd 8. ábra). A maximális hatást (kb. 30 %-os gátlás) 3  $\mu\text{mol/l}$   $\alpha,\beta$ -meATP már kiváltotta. Magasabb koncentráció nem növelte a gátlást. Hasonlóan, az  $\alpha,\beta$ -meATP gátló hatása nem növekedett a koncentráció 10  $\mu\text{mol/l}$ -ről 20  $\mu\text{mol/l}$ -re történő emelése során sem ( $n=5$ , nincs illusztrálva). Az  $\alpha,\beta$ -meATP (10  $\mu\text{mol/l}$ ) gátló hatása nem változott naloxon (0,5  $\mu\text{mol/l}$ ), guanetidin (3  $\mu\text{mol/l}$ ) és L-NOARG (100  $\mu\text{mol/l}$ ) jelenlétében (8. ábra).



**8. ábra.** Elektromos téringerléssel (electrical field stimulation, (EFS): 5 Hz 5 s) kiváltott ileum kontrakciók  $\alpha,\beta$ -meATP előtt (üres oszlopok) és  $\alpha,\beta$ -meATP jelenlétében (csíkozott oszlopok). Az utolsó két oszlop a guanetidin (3  $\mu\text{mol/l}$ ), naloxon (0,5  $\mu\text{mol/l}$ ) és L-NOARG (100  $\mu\text{mol/l}$ ) jelenlétében kapott válaszokat mutatja. Átlag  $\pm$  S.E.M. Függőleges kalibráció: hisztaminnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális összehúzódás %-a;  $n=6-7$  kísérlet; \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ .

A nikotinnal (1 vagy 2  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott ileum kontrakciók reprodukálhatónak bizonyultak 50 perces intervallumon belül. A nikotin hatására létrejövő válaszokat az  $\alpha,\beta\text{-meATP}$  tachyphylaxia (10  $\mu\text{mol/l}$ ) nem befolyásolta (1  $\mu\text{mol/l}$  nikotin:  $48,3 \pm 7,1$  % előtte és  $44,5 \pm 4,3$  %  $\alpha,\beta\text{-meATP}$  jelenlétében,  $n=6$ ; 2  $\mu\text{mol/l}$  nikotin:  $61,6 \pm 4,0$  % előtte és  $58,2 \pm 5,1$  %  $\alpha,\beta\text{-meATP}$  jelenlétében,  $n=6$ ).



**9. ábra**  $\alpha,\beta\text{-meATP}$  tachyphylaxia (10  $\mu\text{mol/l}$ ) hatása (csíkozott oszlopok) a nikotinnal (1 vagy 2  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott kontrakciókra (üres oszlopok) tengerimalac ileumon. Átlag  $\pm$  S.E.M. Függőleges kalibráció: hisztaminnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális összehúzódás %-a;  $n=6-6$  kísérlet.

## Megbeszélés

Jelen kísérleteink alapján megállapítható, hogy ATP hatására legalább három különböző motoros válasz jön létre tengerimalac ileumon és egyik sem teljesen azonos az  $\alpha,\beta$ -meATP által kiváltott reakcióval. Ez az irodalmi adatok alapján nem volt ismert. A relaxációt létrehozó optimális koncentrációk alacsonyabbak, mint a kontrakciót létrehozók. Minden vizsgált válasz idővel eltűnik. Az adagolás ekkori megismétlése azt mutatja, hogy mind tachyphylaxia, mind az aktuális ATP koncentráció lecsökkenése szerepet játszik a válasz „lecsengésében”.

### *Az ATP-hatás farmakológiai befolyásolása*

A *tónusos kontrakció* és valószínűleg a fázikus kontrakciót követő lassú kontrakció is valószínűleg megegyezik a Moody és Burnstock (1982), Watt (1982) majd mások (Kennedy és Humphrey 1994; Wilklund és Gustafsson 1988a,b) által leírt kontrakcióval. Ez a megállapítás mindenekelőtt ezen válaszok atropin- és TTX-rezisztenciáján alapul, mely az ATP posztjunkcionális hatására utal.

Szemben a tónusos kontrakcióval, úgy tűnik, hogy a *gyors (fázikus) kontrakciót* teljes egészében a bélfal kolinerg neuronjai közvetítik, amire a válasz tetrodotoxinnal vagy atropinnal előidézett komplett gátlása utal. Az ATP-vel kiváltott gyors kontrakció csökkenése a ganglionblokkoló hexametónium adását követően arra utalhat, hogy a fázikus kontrakciót közvetítő purinoceptorok nemcsak az enterális kolinerg motoneuronokon találhatók, hanem preszinaptikusan azokon a neuronokon is, amelyek közvetve vagy közvetlenül beidegzik a bél intrinszik kolinerg motoneuronjait.

Nem dönthető el, hogy a jelen kísérletben kimutatott ATP-indukált fázikus (TTX-érzékeny) kontrakció milyen mértékben van kapcsolatban azzal az irodalmi adattal, hogy az ATP képes acetil-kolint felszabadítani a tengerimalac ileum plexus myentericus szinaptoszómákból (Reese és Cooper, 1982). Utóbbi hatás rezisztens volt tetrodotoxinra és nem volt  $\text{Ca}^{2+}$ -függő. A szinaptoszómákon végzett kísérletek ugyanakkor rámutattak arra a lehetőségre, hogy az ATP hatásának egy részét a myentericus idegek tetrodotoxin rezisztens végződéseinek/varikozitásainak stimulációja közvetítheti. Azonban ha hozzáférhető a vélt neurotransmitter antagonistája (mint jelen esetben az atropin), az lehetőséget nyújt arra, hogy megközelítsük a myentericus neuronok részvételének kérdését. Annak eldöntésére, hogy az ATP képes-e az idegvégződéseket izgatni,

megvizsgáltuk az N-típusú feszültségfüggő  $\text{Ca}^{2+}$ -csatorna gátló  $\omega$ -conotoxin GVIA hatását. Sem az ATP indukálta primer tónusos kontrakciót ( $n=3$ ), sem az ATP hatására létrejövő relaxációt nem befolyásolta az alkalmazott meglehetősen magas  $\omega$ -conotoxin GVIA koncentráció ( $0,5 \mu\text{mol/l}$ ). Sőt még a tetrodotoxin és  $\omega$ -conotoxin GVIA kombinációja sem csökkentette ezeket az ATP-indukálta válaszokat. Mindebből úgy tűnik, hogy az ATP tónusos kontraháló valamint relaxáló hatásait simaizmon található receptorokon keresztül fejt ki.

Az ATP hatására létrejövő *relaxáció* rezisztens volt TTX-re és L-NOARG-ra, ami valószínűtlenné teszi, hogy „nitreger” idegekből vagy bármely forrásból származó nitrogén-monoxid szerepet játszana ebben a válaszban. Sawynok és Jhamandas 1976-ban nem találtak bizonyítékot arra vonatkozóan, hogy az ATP ( $0,5 \mu\text{mol/l}$ ) tengerimalac ileumon az acetil-kolin indukálta kontrakcióra direkt gátló hatást fejtene ki. Mivel a szerzők által használt legmagasabb ATP koncentráció megegyezett az általunk relaxáció kiváltására használt küszöbkoncentrációval, nincs lényeges diszkrepancia a két tanulmány között. Ugyanakkor a Watt által 1982-ben végzett megfigyelés, miszerint az ATP ileum kontrakcióra gátló hatást fejt ki, főként indirekt hatáson alapulhat (pl. az adenosin gátló hatást fejt ki az acetil-kolin felszabadulására).

A myentericus neuronokon végzett elektrofiziológiai tanulmányok szerint az exogén ATP és a preszinaptikus idegek elektromos stimulációja a plexus myentericusban gyors excitatórikus potenciálokat vált ki (Barajas-Lopez és mtsai 1993, 1996; Galligan és Bertrand, 1994; Kimball és mtsai, 1996; LePard és mtsai, 1997; Zhou és Galligan, 1996). Abban az esetben, ha az érintett purinoceptorok a plexus myentericus kolinerg izgató motoneuronjain helyezkednek el, az várható, hogy az ATP hatására létrejövő választ részben idegek közvetítik. Ileumon az ATP hatására létrejövő motoros válaszok komplexitása megnehezíti a hatások vizsgálatát. A tiszta fázikus (kolinerg) kontrakció csak a preparátumok egy részén volt vizsgálható, valószínűleg a többi preparátumon a tónusos kontrakció vagy relaxáló hatás elfedte. A feltételezett prejunkcionális gátló hatás jelenléte (Watt, 1982) még összetettebbé teheti a válaszok megjelenési formáit.

Kísérleteink célja nem az volt, hogy meghatározzuk ileumon az ATP hatás közvetítésében szerepet játszó receptorok pontos típusait, mivel  $\text{P}_2$  purinoceptor altípusokon ható specifikus antagonisták csak néhány altípusra nézve léteznek. Kennedy és Humphrey 1994-ben agonisták széles skáláját használva is nehéznek találta a tengerimalac ileum simaizomsejtjein és kolinerg neuronjain található receptorok pontos

kategorizálását. Valószínű, hogy az ATP egy időben több purinoceptor típust és/vagy altípust aktivál.

Az ATP hatására létrejövő mindhárom motoros válasz gátolható volt PPADS-sel 30  $\mu\text{mol/l}$ -es vagy alacsonyabb koncentrációban. Ami az ATP indukálta relaxációt illeti, a PPADS (30  $\mu\text{mol/l}$ ) gátló hatása kompetitívnek látszik. A kontrakciós válaszokat tekintve koncentráció-hatás összefüggés nem volt megfigyelhető, mivel azok az ATP koncentrációk, amelyek ezeket a válaszokat eredményezték, eleve magasak voltak. Ebben az esetben ugyanakkor a PPADS koncentrációjának csökkentése gyengébb gátló hatáshoz vezetett, de még a 3  $\mu\text{mol/l}$  PPADS is több mint 50 %-os gátlást eredményezett. Irodalmi adatok arra utalnak, hogy a PPADS  $\text{EC}_{50}$  értékei mikromoláris tartományban vannak, de egyes receptortípusokon ennél magasabbak (hivatkozásokért ld. Benkó és mtsai, 2007). Másrészt 30  $\mu\text{mol/l}$  (Barthó és mtsai, 1997), sőt 300  $\mu\text{mol/l}$  (jelen vizsgálat) PPADS sem befolyásolja az acetil-kolinnal kiváltott kontrakciót tengerimalac ileumon és az utóbbi koncentráció a hisztamin-indukálta kontrakciókat sem befolyásolta. Ez azt bizonyítja, hogy a PPADS-nek nincs nem specifikus simaizom relaxáló vagy antimuszkarin hatása. Mi több, a PPADS nem gátolta a kolecisztokinin oktapeptiddel vagy a tachykinin  $\text{NK}_3$  receptor agonista senktiddel kiváltott kolinerg-ileum kontrakciókat sem (Barthó és mtsai, 2000), ami arra utal, hogy a PPADS-nek nincs általános vagy nem-specifikus neuronális gátló hatása. Mindezen eredmények birtokában megállapíthatjuk, hogy a PPADS biztonságosan használható a  $\text{P}_2$  purinoceptor mediálta válaszok gátlására.

Jelen tanulmányunkban bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy nemcsak az  $\alpha,\beta$ -meATP, hanem maga az ATP is képes izgatni a plexus myentericus kolinerg neuronjait PPADS-érzékeny módon. Ez összhangban van azon megfigyeléseinkkel, miszerint a PPADS (Barthó és mtsai, 1997) vagy az  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia (jelen kísérletek) mérsékelten gátolja az elektromos téringerléssel kiváltott kolinerg kontrakciókat, ami ATP felszabadulást valószínűsít az enterális kolinerg motoneuronok szomszédságában. Az ATP-indukált válaszok gátlása PPADS-sel szintén azt bizonyítja, hogy az ATP a hatásokat  $\text{P}_2$  purinoceptorokon keresztül fejt ki, nem pedig  $\text{P}_1$  receptorokon (az utóbbi valószínűsége csökkenthető teofillin használatával). A PPADS ismert ekto-nukleotidáz gátló hatása (Bültmann és mtsai, 1999) nem valószínű, hogy szerepet játszik az általunk kapott eredményekben, illetve ha igen, akkor gyengíti a PPADS antagonistá hatását. Másrészt az ATP indukálta relaxáció szignifikáns gátlása reactive blue 2-vel

valószínűsíti a  $P_{2Y}$  purinoceptorok részvételét ebben a választípusban. Ezek az eredmények szintén azt mutatják, hogy a PPADS valószínűleg kompetitív módon  $P_{2Y}$  purinoceptorokon is hat, amit már korai megfigyelések is leírtak erről szerről (Boyer és mtsai, 1994; Windscheif és mtsai, 1994).

#### *Az $\alpha,\beta$ -meATP hatásának farmakológiai befolyásolása*

Néhány tanulmányt kivéve általánosan elfogadott tény az, hogy az  $\alpha,\beta$ -meATP kolinerg úton mediált kontrakciót okoz tengerimalac ileumon (Barthó és mtsai, 1997, 1999a; Kennedy és Humphrey, 1994; Matsuo és mtsai, 1997; Moody és Burnstock, 1982; és jelen kísérletek).

Az  $\alpha,\beta$ -meATP – legalábbis a jelen kísérletsorozatban vizsgált koncentrációtartományban – csak kontrakciót vált ki az ileum hosszanti izomzatán. Ez az ATP analóg elősegíti az acetil-kolin felszabadulását is tengerimalac hosszanti izomplexus myentericus preparátumból (Sperlágh és Vizi, 1991). A jelen eredmények alapján valószínűnek tűnik, hogy az ATP és  $\alpha,\beta$ -meATP által kiváltott kolinerg izgató választ nem ugyanazon receptorok közvetítik, miután az  $\alpha,\beta$ -meATP 10  $\mu\text{mol/l}$  koncentrációban nem befolyásolta az ATP hatására létrejövő fázikus kolinerg kontrakciót. Ellenben 10  $\mu\text{mol/l}$  vagy akár 1  $\mu\text{mol/l}$   $\alpha,\beta$ -meATP-vel történő előkezelés erősen csökkenti egy további  $\alpha,\beta$ -meATP beadás hatását. Mi több, az ATP és  $\alpha,\beta$ -meATP hatására létrejövő kolinerg kontrakciót különböző mértékben befolyásolja a ganglionblokkoló hexametónium (az ATP-t szignifikánsan gátolja,  $\alpha,\beta$ -meATP-re nincs hatással).  $\alpha,\beta$ -meATP esetén a hexametónium gátló hatásának hiánya alapján megállapítható, hogy preganglionáris kolinerg rostok valószínűleg nem játszanak (jelentős) szerepet az  $\alpha,\beta$ -meATP-okozta összehúzódásban. Ami az  $\alpha,\beta$ -meATP izgató hatásában részt vevő  $P_2$  purinoceptor típusokat illeti, korai lenne megnevezni bármely receptor altípust. Ugyanakkor úgy találtuk, hogy a részt vevő receptorok nem érzékenyek meglehetősen magas brilliant blue G koncentrációkra. Érzékenyek viszont a széles spektrumú  $P_2$  purinoceptor antagonistá PPADS-re, és mérsékelt érzékenységet mutatnak NF 279-re. Az utóbbi eredmény  $P2X_1$ ,  $P2X_2$  vagy  $P2X_3$  receptorok részvételére utalhat.

*Az ATP és az  $\alpha,\beta$ -meATP hatása független a kapszaicin-érzékeny neuronoktól*

A szenzoros stimuláns kapszaicin izgatja a bélfal primer afferens neuronjainak perifériás végződéseit/varikozításait és az általa a kapszaicin-érzékeny afferensekből felszabadított transzmitterek aktiválják a plexus myentericus kolinerg neuronjait (Szolcsányi és Barthó, 1978; Barthó és Solcsányi, 1978; Barthó és mtsai, 1999a,b, 2004). Magas kapszaicin koncentráció segítségével lehetőség van a kapszaicin-érzékeny afferensek funkciójának blokkolására. Még az ATP-indukálta kolinerg fázikus kontrakció nagyon rövid latenciáideje mellett is lehetségesnek tűnik, hogy a kapszaicin-érzékeny primer afferensek részt vesznek ebben a válaszban, tehát hogy az ATP izgathatja ezeket az afferenseket, melyek transzmitter-felszabadító ún. „lokális efferens” funkcióval is bírnak, így izgathatják az intrinszik kolinerg neuronokat (Holzer, 1991; Barthó és mtsai, 2004). Irodalmi adatok, amelyek kimutatták, hogy izgató  $P_2$  purinoceptorok találhatók a primer afferenseken, szintén alátámasztják ezt az elgondolást (idézetekért ld. Barthó és mtsai, 1999a; Burnstock és Wood, 1996; Kennedy és Leff, 1995). Mindemellett a kapszaicin előkezelés hatástalansága az ATP-indukálta fázikus kontrakcióra praktikusán kizárja a kapszaicin-érzékeny neuronok részvételét ebben a válaszban. Az  $\alpha,\beta$ -meATP kontrakciós hatása szintén rezisztens kapszaicin tachyphylaxiára, mint azt már munkacsoportunk korábban leírta (Barthó és mtsai, 1999a).

*$\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia hatása az elektromos ideg ingerléssel és nikotinnal kiváltott válaszokra*

A nikotin által kiváltott kontrakciók rezisztenciája  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia iránt érdekes kettősséget vet fel az elektromos ingerlés és nikotin-kiváltotta kolinerg kontrakció között. Ez az eredmény ugyanakkor kizárja az  $\alpha,\beta$ -meATP tachyphylaxia postjuncionális gátló hatását. Meg kell jegyezni, hogy amíg az elektromos téringerlés-indukálta kolinerg kontrakciót a PPADS mérsékelten gátolja (Barthó és mtsai, 1997), ugyanakkor kolecisztoxinin oktapeptid vagy tachykinin  $NK_3$  receptor agonista senktide hatására létrejött kolinerg kontrakciókat PPADS nem befolyásolja (Barthó és mtsai, 2000). Azok a mechanizmusok, amelyek a plexus myentericus kolinerg neuronjainak



elektromos aktiválását érzékenyebbé teszik  $P_2$  purinoceptor gátlással szemben, még magyarázatra szorulnak.

### **Következtetések**

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy tengerimalac ileumon az ATP direkt simaizom összehúzó hatása mellett aktiválhat (részben preganglionáris) kolinerg neuronokat, és ennek hatásmechanizmusa nagyban különbözik az  $\alpha,\beta$ -meATP által kiváltott kolinerg kontrakciótól. Az ATP relaxáló hatást is kivált, mely direkt, valószínűleg  $P_{2Y}$  receptor mediált hatás a simaizmon. Az ATP minden motoros hatása gátolható a purinoceptor antagonist PPADS-sel. Az ATP hatására létrejövő kolinerg válasz és annak gátlása PPADS-sel alátámaszthatja a tengerimalac ileumon közölt, elektromos téringerléssel vagy nyálkahártya stimulációval kiváltott kolinerg kontrakció  $P_2$  purinoceptorokkal történő részleges gátlását.

Az  $\alpha,\beta$ -meATP tengerimalac ileumon kontrakciót hoz létre a plexus myentericus kolinerg motoneuronjain található PPADS-érzékeny  $P_2$  purinoceptorok stimulálásával. Az  $\alpha,\beta$ -meATP-vel létrehozott tachyphylaxia szelektíven csökkenti a motoneuronok elektromos aktiválásával kiváltott kontrakciót, ami arra utal, hogy  $P_{2X}$  purinoceptorok részt vesznek a bél izgató neurotranszmissziójában.

## 2. fejezet

### **„Purinerg” idegek szerepe humán ileum nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) relaxációjában**

#### **Bevezetés**

Az emberi vékonybél funkcionális beidegzéséről kevesebb a rendelkezésre álló ismeretanyag, mint a kísérleti állatok, pl. tengerimalac esetében. Ma már bizonyos, hogy emberi bélrendszerben a nitrogén-monoxid (NO) neurotranszmitterként jelentős szerepet tölt be a NANC relaxációban (Boeckxstaens és mtsai, 1993; Burleigh, 1992; Hinds és mtsai, 2006; Keef és mtsai, 1993; Maggi és mtsai, 1991; Murr és mtsai, 1999; Tam és Hillier, 1992). Azonban a „purinerg” idegek részvételére a válaszban jelenleg még nincs funkcionális bizonyíték, bár egy apamin-érzékeny mechanizmust már közöltek (Boeckxstaens és mtsai, 1993). Újabban kiderült azonban, hogy az ATP mellett számos más relaxáló anyag hatása is (részben vagy teljesen) apamin-érzékeny (lásd 14. oldal). A jelen kísérletsorozatban azt a feltételezést vizsgáltuk, miszerint a P<sub>2</sub> purinoceptorok szerepet játszhatnak a NANC gátló válasz „nem-nitrerg” komponensében humán ileumon. Ezen kérdés megválaszolására kísérleteinkben vizsgáltuk két P<sub>2</sub> purinoceptor antagonistát, a piridoxál-foszfát-6-azofenil-2',4'-szulfonsav (PPADS) és a suramin hatásait az elektromos téringerléssel kiváltott NANC relaxációra a NO-szintáz bénító N<sup>G</sup>-nitro-L-argininnel (L-NOARG) előkezelt humán vékonybél körkörös irányú csík készítményeken *in vitro*.

Újabban a P2Y<sub>1</sub> receptorok specifikus gátlóját, az MRS 2179 jelű anyagot (Boyer és mtsai, 1996) használják egyebek közt a bélkészítmények NANC relaxációjának vizsgálatára. Mi több, humán vastagbélben az általunk PPADS + suramin kezeléssel gátolhatónak bizonyult „nem-nitrerg” NANC elernyedést (Benkó és mtsai, 2007) ez a szer is gátolta (Gallego és mtsai, 2006). Lehet, hogy ez a P2Y<sub>1</sub> antagonistát alkalmasabb eszköz a „purinerg” simaizomgátló mechanizmusok vizsgálatára, mint az eddigiek (a fentén kívül pl. a „reactive blue” – Glänzel és mtsai, 2003).

Elfogadva a Gallego és mtsai által leírtakat, kísérleteinkben jellemeztük az MRS 2179 anyagot, elsősorban specifikusság szempontjából (esetleges simaizom- vagy idegvezetés-gátló hatás milyen koncentrációban mutatható ki), majd megvizsgáltuk az

antagonista specifikus koncentrációinak hatását az általunk „purinerg”-nek talált „nem-nitrg” NANC elernyedésre emberi vékonybél körkörös izomzatán.

## **Módszerek és anyagok**

### *Humán izolált bél készítmények*

A kísérleteket a Pécsi Tudományegyetem Kutatási Etikai Bizottságának engedélyével végeztük.

Az ileum preparátumokat carcinoma miatt bélműtéten átesett betegek eltávolított marginális, intakt bélszakaszaiból készítettük. Az operációs anyagból származó vékonybél szövetből körkörös irányú, kb. 2 x 20 mm méretű preparátumokat készítettünk, melyekről a nyálkahártyát lemetsettük.

### *A kísérletek menete*

A kísérletek a műtét napján történtek. A készítményeket 5 ml-es szervfürdőkben, 37 °C-os, oxigenizált (95 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>) Krebs-oldatban függesztettük fel, 10 mN-os feszítést alkalmazva. A mozgásokat izotóniásan, jelátalakító és híd (Hugo Sachs/Harvard Apparatus, B40 type 373) segítségével kompenzográfion illetve számítógés programmal (S.P.E.L. Isosys, Experimetria, Budapest) regisztráltuk. Az idegeket elektromos téringerléssel (Paton és Vizi, 1969) aktiváltuk a szervfürdőbe alul és felül elhelyezett két platina elektród segítségével (távolságuk 4 cm). Az ingerléshez ST-02 nagy teljesítményű elektromos stimulátort alkalmaztunk (Experimetria, Budapest). Az elektromos téringerlés paraméterei: amplitúdó 80 V, impulzusszélesség 0,1 ms, 1 illetve 10 Hz frekvencia, 20 s-os ingersorozatok. A NANC viszonyok fenntartására atropin (1 µmol/l) és guanetidin (3 µmol/l) a kísérlet folyamán végig jelen volt a fürdőben. A kísérletek többségében L-NOARG (100 µmol/l) szintén végig jelen volt a szervfürdőben, kivéve azokat az eseteket, amikor az NO szintézis gátlásának hatását vizsgáltuk. A NANC relaxációt a feszültség-függő Na<sup>+</sup>-csatorna blokkoló tetrodotoxin (1 µmol/l) teljesen kivédte (n=4 mindkét frekvencián). Az egyes csoportokon belül minden preparátum más-más betegből származott.

A kísérleteket az alábbi protokoll szerint végeztük. 60-90 perces inkubációt követően a preparátumokat neurokinin A-val (30 nmol/l) szubmaximálisan előkontraháltuk és

idegingerlést vagy valamilyen relaxáló anyagot (200  $\mu\text{mol/l}$  ATP, 3-10  $\mu\text{mol/l}$  izoprenalin, kontaktusidő 5 perc) alkalmaztunk. Ezután a szervfürdőben lecseréltük a folyadékot és 45 perces inkubáció után a folyamatot megismételtük. Az elektromos téringerlés hatása két ciklusban reprodukálható volt. NOS-gátló jelenlétében az egymást 45 perc múlva követő ingerlések 1 Hz frekvencián  $23,3 \pm 5,5 \%$  és  $24,6 \pm 5,8 \%$ -os relaxációt okoztak ( $n=6$ ), míg 10 Hz frekvencián a relaxáció  $30,2 \pm 3,5 \%$  és  $34,9 \pm 3,5 \%$ -os volt ( $n=9$ ). Az ATP (200  $\mu\text{mol/l}$ ) első beadásra  $35,6 \pm 4,4 \%$ , másodikra  $33,0 \pm 4,9 \%$ -os elernyedést okozott ( $n=10$ ), míg az izoprenalin (3-10  $\mu\text{mol/l}$ ) első beadásra  $52,6 \pm 7,4 \%$ , másodikra  $52,7 \pm 8,3 \%$ -os választ eredményezett ( $n=7$ ). Az eredményeket a maximális elernyedés százalékában adtuk meg. A 30 nmol/l NKA-val kiváltott szubmaximális kontrakció nagyságát 5 preparátumon vizsgáltuk és kb. 70 %-osnak találtuk. A neurokinin A beadását követő 3. és 5. perc között a preparátum tónusa nem csökkent, ezért ezt az időintervallumot használtuk fel az elektromos ingerlésre, illetve relaxáló ágens beadására.

#### *Alkalmazott anyagok*

Adenozin-5'-trifoszfát (ATP), apamin, atropin-szulfát, guanetidin-szulfát, D,L-izoprenalin-hidroklorid, neurokinin A,  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginin (L-NOARG), piridoxál-foszfát-6-azofenil-2',4'-szulfonsav (PPADS), suramin, tetrodotoxin (TTX). A felsorolt anyagokat a Sigma-tól szereztük be (Sigma Kft, Budapest). Az MRS 2179 jelű anyagot a Tocris szállította.

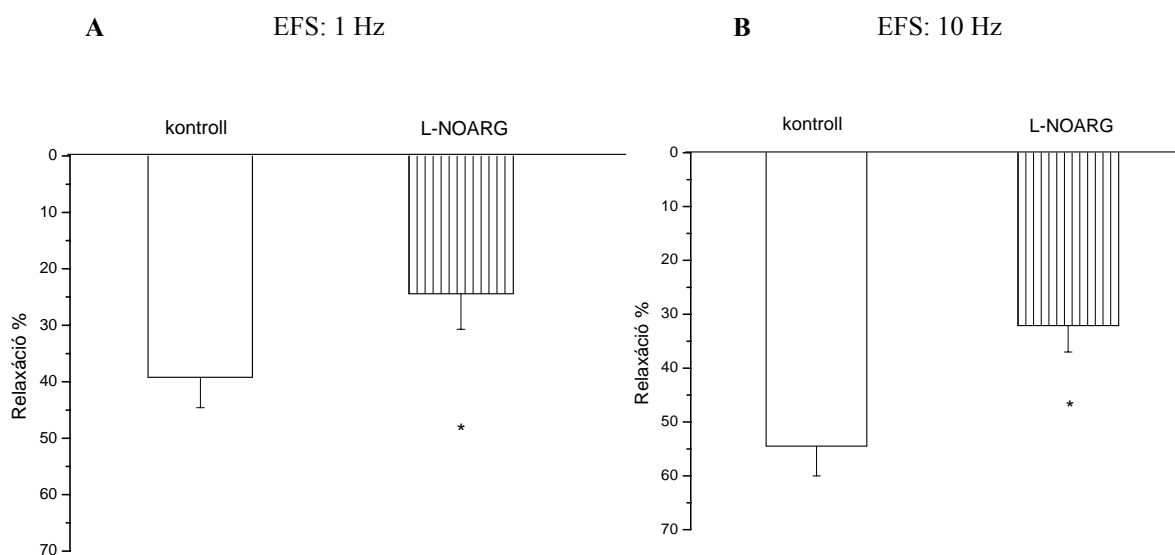
#### *Statisztikai módszerek*

A válaszok nagyságát a maximális elernyedés százalékában adtuk meg, melyet a kísérlet végén izoprenalin (10  $\mu\text{mol/l}$ ) segítségével váltottunk ki nem-előkontrahált preparátumokon. Adatainkat átlag  $\pm$  S.E.M. formájában adtuk meg. A statisztikai összehasonlításokat Wilcoxon teszt segítségével végeztük, és  $p < 0,05$  vagy kisebb valószínűséget tekintettünk szignifikánsnak.

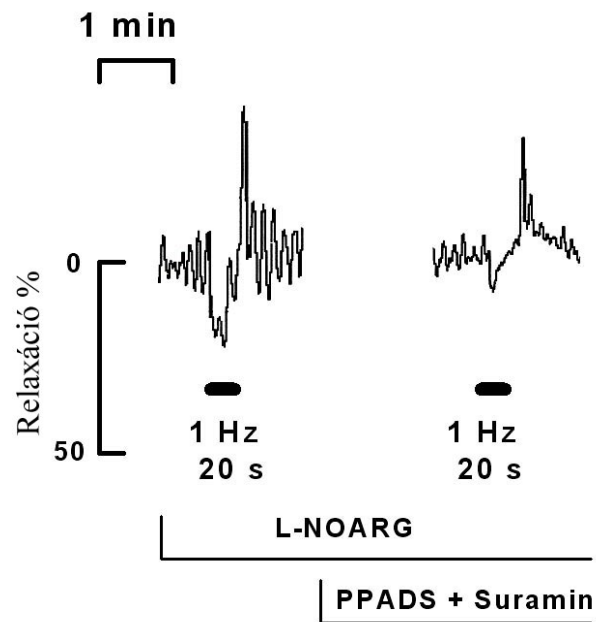
## Eredmények

Előkontrahált preparátumokon az elektromos ingerlés (1 illetve 10 Hz) NANC elernyedést okozott, amelyet az L-NOARG (100  $\mu\text{mol/l}$ ) szignifikánsan csökkentett, de teljesen nem védett ki (10. ábra).

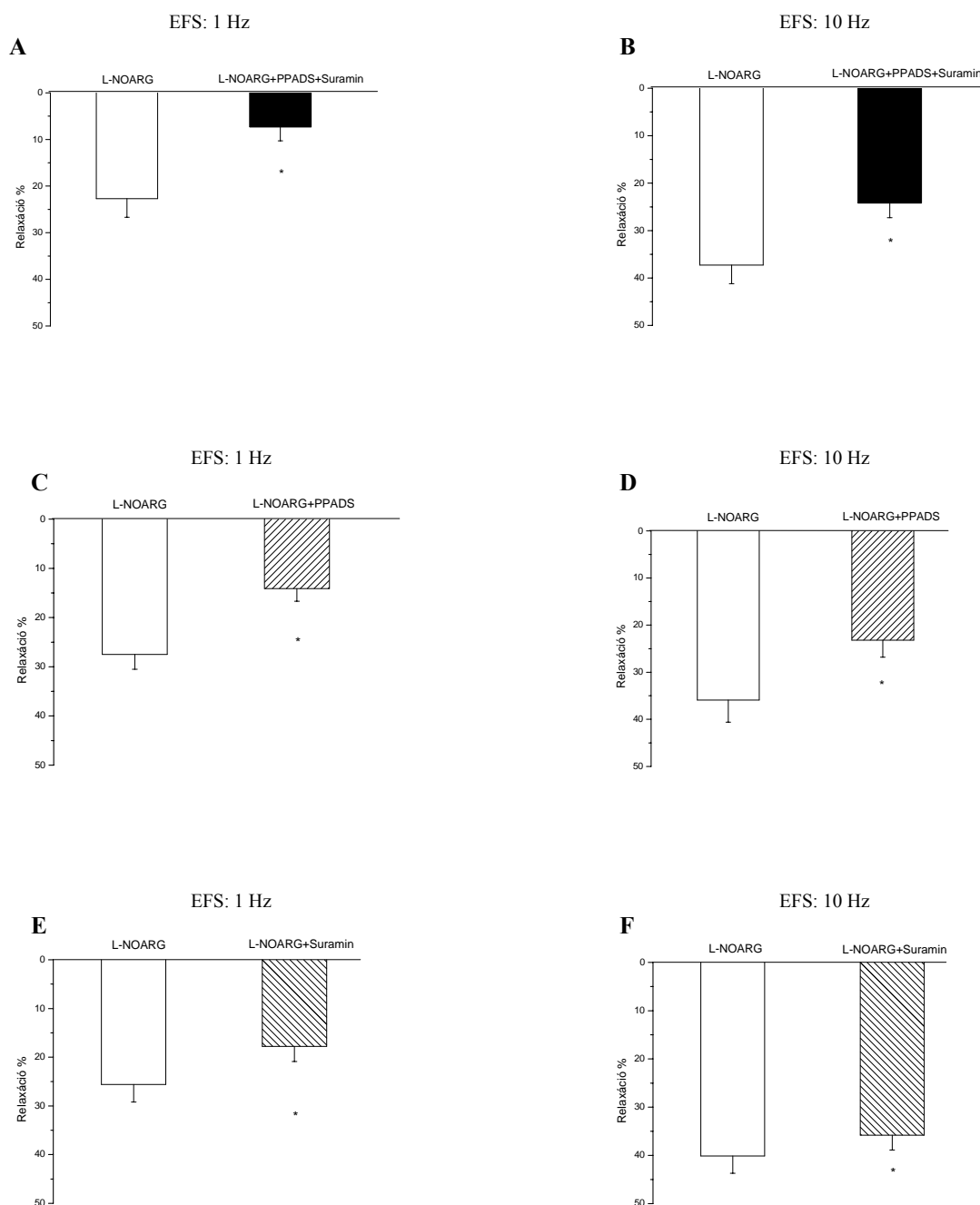
L-NOARG jelenlétében a  $P_2$  purinoceptor antagonistá PPADS (50  $\mu\text{mol/l}$ ) ill. suramin (100  $\mu\text{mol/l}$ ) szignifikánsan gátolta a NANC relaxációt mindkét frekvencián (12. ábra). A gátlás 1 Hz-en erősebb volt, mint 10 Hz esetén. A két antagonistá kombinációja 1 Hz-en jelentős (70 %) , míg 10 Hz-en 35 %-os gátlást okozott (11. és 12. ábra).



**10. ábra A, B** Elektromos téringerlés (electrical field stimulation, EFS; 1 Hz ill. 10 Hz 20 s) által kiváltott NANC relaxáció gátlása  $N^G$ -nitro-L-argininnel (L-NOARG 100  $\mu\text{mol/l}$ , csíkozott oszlopok) humán ileum körkörös izom preparátumon. Az adatok 7 kísérlet átlagát mutatják  $\pm$  S.E.M; \*  $p < 0,05$  a kontroll ingerléshez viszonyítva (Wilcoxon teszt). Függőleges tengely: az izoprenalinnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.

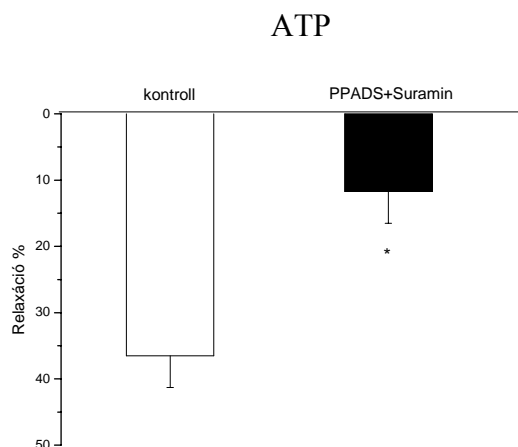


**11. ábra.** Eredeti regisztrátum részletei. Humán ileum körkörös izom preparátumon elektromos téringerlés (1 Hz 20 s) által kiváltott „nem-nitrerg” NANC relaxáció gátlása  $P_2$  purinoceptor antagonistákkal. Függőleges tengely: az izoprenalinnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés 50 %-a.



**12. ábra.** „Nem-nitrerg” NANC relaxáció gátlása purinoceptor antagonistákkal (PPADS 50  $\mu\text{mol/l}$ , suramin 100  $\mu\text{mol/l}$ , illetve a kettő kombinációja)  $\text{N}^{\text{G}}$ -nitro-L-arginin (L-NOARG 100  $\mu\text{mol/l}$ ) jelenlétében humán ileum körkörös izom preparátumon. Ingerlési paraméterek: **A, C, E:** 1 Hz 20 s, 0,1 ms impulzusszélesség, 80 V; **B, D, F:** 10 Hz 20 s, 0,1 ms impulzusszélesség, 80 V. Az adatok 5-8 kísérlet átlagát mutatják  $\pm$  S.E.M. \*  $p < 0,05$  a kontroll ingerléshez viszonyítva (Wilcoxon teszt). Függőleges tengely: az izoprenalinnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.

Az exogén ATP (200  $\mu\text{mol/l}$ ) kb. ugyanakkora relaxációt okozott, mint az elektromos téringерlés. PPADS és suramin együttesen az exogén ATP hatását 70 %-kal gátolták (13. ábra).

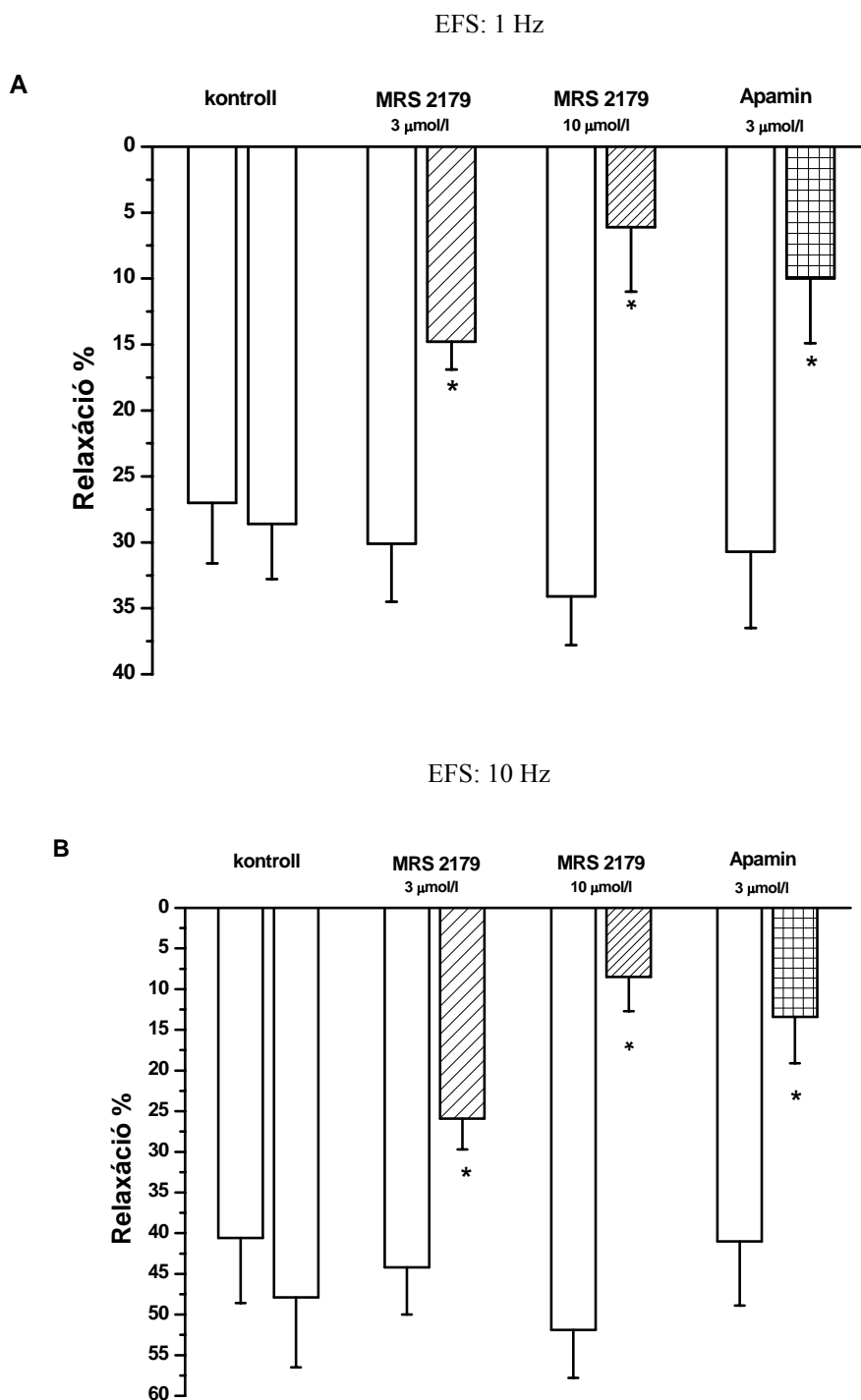


**13. ábra.** A  $P_2$  purinoceptor antagonistá PPADS (50  $\mu\text{mol/l}$ ), és suramin (100  $\mu\text{mol/l}$ ) kombinációjának hatása az ATP (200  $\mu\text{mol/l}$ ) által kiváltott relaxációra humán ileum körkörös izom preparátumon. Az adatok 7-10 kísérlet átlagát mutatják  $\pm$  S.E.M; \*  $p < 0,05$  (Wilcoxon teszt). Függőleges tengely: az izoprenalinnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.

*A  $P_{2Y}$  purinoceptor antagonistá MRS 2179 gátló hatása humán ileum körkörös izomzaton kiváltott NANC relaxációra*

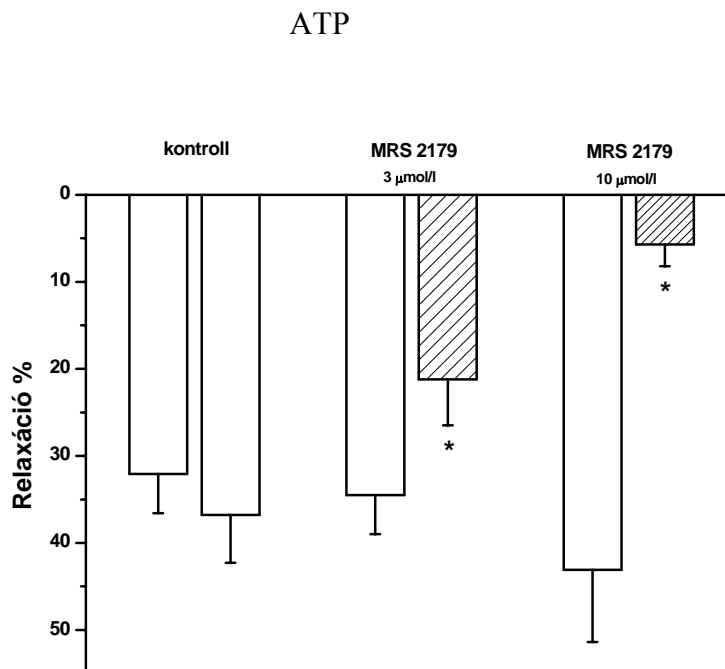
NKA-val előkontrahált preparátumokon az MRS 2179 (3 illetve 10  $\mu\text{mol/l}$ ) szignifikánsan gátolta az elektromos téringерléssel kiváltott „nem-nitrerg” NANC relaxációt mind 1 Hz, mind pedig 10 Hz frekvencián (lásd 14. ábra A, B). A 3  $\mu\text{mol/l}$  MRS 2179 kb. 50 %-os, még 10  $\mu\text{mol/l}$  MRS 2179 közel teljes gátlást idézett elő. Az apamin (3  $\mu\text{mol/l}$ ) több mint 50 %-kal csökkentette a NANC relaxációt mindkét frekvencián.





**14. ábra** MRS 2179 (3 illetve 10  $\mu\text{mol/l}$ , csíkozott oszlopok) valamint apamin (3  $\mu\text{mol/l}$ , kockás oszlopok) hatása az 1 Hz 20 s (**A ábra**) illetve 10 Hz 20 s (**B ábra**) elektromos téringerléssel kiváltott „nem-nitrerg” NANC relaxációra (üres oszlopok) NKA-val (30 nmol/l) előkontrahált emberi vékonybél körkörös izom preparátumon. Az ábra 5-6 kísérlet átlagát mutatja  $\pm$  S.E.M; \* $p < 0,05$  (Wilcoxon teszt). Függőleges tengely: az izoprenalinnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.

Az exogén ATP-vel kiváltott elernyedést 3  $\mu\text{mol/l}$  MRS 2179 szignifikánsan csökkentette, míg 10  $\mu\text{mol/l}$  MRS 2179 teljesen gátolta (lásd 15. ábra).



**15. ábra** Az MRS 2179 (3 illetve 10  $\mu\text{mol/l}$ , csíkozott oszlopok) hatása az ATP (200  $\mu\text{mol/l}$ , üres oszlopok) által kiváltott elernyedésre humán ileum körkörös izom preparátumon. Az adatok 5-6 kísérlet átlagát mutatják  $\pm$  S.E.M. \* $p < 0,05$  (Wilcoxon teszt). Független tengely: az izoprenalinnal (10  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.

Az MRS 2179 (10  $\mu\text{mol/l}$ ) nem befolyásolta sem az izoprenalinnal kiváltott elernyedést, sem a neurokinin A-val kiváltott összehúzódást.

## Megbeszélés

A jelen kísérletsorozatban elsőként szolgáltatunk bizonyítékot arra, hogy a P<sub>2</sub> purinoceptor-mediált „purinerg” mechanizmusok részt vesznek humán vékonybél NANC gátló válaszában. Mint azt két kutatócsoport korábban kimutatta, emberi vékonybél körkörös izom preparátumokon a NO mediálja a NANC válaszok egy részét (Maggi és mtsai, 1991; Murr és mtsai, 1999). Mi több, az NO egyedül felelős a teljes NANC gátlásért humán végbél belső záróizmon (Burleigh, 1992). Kimutatták továbbá, hogy az NO-szintáz gátlása a NANC relaxáció részleges csökkenéséhez vezet a humán bélrendszer más szakaszain is (Boeckxstaens és mtsai, 1993; Burleigh, 1992; Maggi és mtsai, 1991; Murr és mtsai, 1999). Kísérleteinkben L-NOARG segítségével megerősítettük a nitrogén-monoxid NANC relaxációban való részvételét emberi vékonybél körkörös izomzatán. További kísérleteinket L-NOARG jelenlétében végeztük.

A P<sub>2</sub> purinoceptor antagonistá PPADS (Lambrecht és mtsai, 1992) vagy suramin (Dunn és Blakeley, 1988; Hoyle és mtsai, 1990) szignifikánsan gátolta az elektromos téringerléssel kiváltott NANC relaxáció „nem-nitrerg” komponensét 1 Hz illetve 10 Hz frekvencián. A két purinoceptor antagonistá 1 Hz frekvencián együttesen jelentősen gátolta a NANC relaxációt, míg 10 Hz esetén a két antagonistá kombinációja kevesebb, mint 50 %-os gátlást okozott. A két anyag együtt az exogén ATP hatását is jelentősen (70%) gátolta. Mindebből arra következtettünk, hogy egy másik „nem-nitrerg” transzmitter szintén szerepet játszhat a NANC relaxációban, vagy a kísérlet során használt purinoceptor antagonisták még ebben a meglehetősen magas koncentrációban sem voltak elegendőek a 10 Hz-cel kiváltott NANC relaxációban részt vevő purinoceptorok teljes gátlásához. Azonban úgy gondoljuk, hogy ezen anyagok magasabb koncentrációban való használata nem specifikus hatásokat fejthet ki. A suraminról (50 vagy 100  $\mu\text{mol/l}$ ) pl. ismert, hogy patkány vékonybélben csökkenti a prosztaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  -val kiváltott kontrakciót (Benkó és mtsai, 2006; Smits és Lefebvre, 1996). Mindenesetre a jelen kísérletekben a PPADS és suramin kombinációja nem befolyásolta a neurokinin A-val kiváltott kontrakciót, valamint az izoprenalinnal kiváltott fél-maximális relaxációt.

Kísérletsorozatunk első részében kimutattuk, hogy a „nitroerg” és „purinerg” idegek együtt közvetítik a NANC elernyedést emberi vékonybél körkörös izomzatán. A „nitroerg” és „purinerg” mechanizmusok eltérő mértékű szerepet töltenek be a NANC gátló válaszban. Ezt a különbséget az elektromos ingerlés különböző frekvenciái magyarázhatják. Kísérleti állatokon, illetve humán körkörös izom preparátumokon végzett elektrofiziológiai tanulmányok kétféle - „purinoceptorok” és NO által mediált - inhibitoros junciós potenciált (IJP) különítenek el: gyors és lassú (Gallego és mtsai, 2006; Keef és mtsai, 1993; Rae és Muir, 1996; Xue és mtsai, 1999; Zagorodnyuk és mtsai, 1996). Kísérleteink megerősítették, hogy az MRS 2179 antagonistá alkalmasság eszköze lehet a humán gasztrointesztinális rendszer „purinerg” rendszereinek tanulmányozására.

A kísérleteinkben használt 3-10  $\mu\text{mol/l}$  dózisú MRS 2179 hatékonyan gátolta a NANC relaxációt, valamint szignifikánsan csökkentette a „purinerg” transzmitter ATP elernyesztő hatását. Annak vizsgálata, vajon az MRS 2179 specifikusan csak a  $\text{P2Y}_1$  receptorokat gátolja, illetve van-e más purinoceptorokon is hatása, nem képezte jelen kísérletsorozatunk tárgyát, irodalmi adatok azonban specifikusnak mutatják e szert a  $\text{P2Y}_1$  receptorokra (ld. von Kügelen és Wetter, 2000).

Az izoprenalinnal kiváltott relaxációt nem befolyásolta a nagy dózisú MRS 2179 (10  $\mu\text{mol/l}$ ).

Kísérleteink alapján összefoglalóan megállapíthatjuk, hogy a  $\text{P}_{2Y}$  receptor antagonistá MRS 2179-re érzékeny „purinerg” mechanizmusok jelentős szerepet játszanak humán vékonybél körkörös izomzatának „nem-nitroerg” NANC gátló válaszában in vitro.

### 3. fejezet

## Kapszaicin- ill. VIP-tachyphylaxia hatásai a humán szigmbél NANC gátló válaszáira

### Bevezetés

A bélhuzam NANC elernyedésének közvetítésére három fő „jelölt” van: az ATP vagy hasonló jellegű „purinerg” transzmitter, NO és a VIP (ill. VIP/PACAP). Az NO-val és ATP-vel az előző fejezetek foglalkoztak.

Úgy tartják, hogy a VIP szerepet játszik különféle gasztrointestinális preparátumok NANC gátló válaszaiban (ld. Dockray, 1994; Lecci és mtsai, 2002; Said és Rattan, 2004). A 28 aminosavból álló VIP-et az 1970-es évek elején Said és Mutt azonosították. Később kimutatták, hogy a VIP a szekretin-glukagon peptidcsaládhoz tartozik, melynek tagjai még: gastric inhibitory polypeptide (GIP), hipofízis adenilát-ciklázst aktiváló polipeptid (PACAP), valamint a helospektinek, heloderminek (Said és Mutt, 1972). A VIP sejtfelszíni receptorokhoz kötődve fejti ki hatásait a célsejteken. A VIP-hez hasonló rokon peptid, a PACAP szintén aktiválja a VIP receptorokat. Három nagy affinitású VIP/PACAP receptort izoláltak és klónoztak: VPAC<sub>1</sub> (hasonló affinitással köti a VIP-et, PACAP(1-38)-at és a PACAP(1-27)-et), VPAC<sub>2</sub> (magas affinitás mind PACAP mind VIP iránt), valamint a PAC<sub>1</sub> (sokkal magasabb affinitással köti a PACAP-ot, mint a VIP-et) (ld. Harmar és mtsai, 1998). A VIP/PACAP receptor antagonistá PACAP(6-38) a VPAC<sub>2</sub> és PAC<sub>1</sub> receptorokon hat.

A paprika (*Capsicum annum*) csípős anyaga, a kapszaicin izgatja az érző idegvégződéseken elhelyezkedő Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1” (TRPV1) ioncsatornához kötött receptort (Caterina és Julius, 2001). A zsigeri szervek kapszaicin-érzékeny idegvégződéseiből felszabaduló transzmitterek feltehetően felszabadulnak az érző neuron központi idegrendszeri végződéseiből is (gerincvelő hátsó szarv), ahol szerepet játszhatnak a nocicepcióban. A szenzoros neurotranszmitterek azonosításában tehát hasznos eszközt jelent a kapszaicin zsigeri hatásainak tanulmányozása (Barthó és mtsai, 2004). Ugyanakkor a kapszaicin deszenzibilizáció széles körben használt eszköz az izolált szervi vizsgálatokban, mivel funkcionálisan károsítja az érintett idegvégződéseket.

Különféle állatfajok gasztrointesztinális preparátumai eltérően reagálnak kapszaicinre (ld. Barthó és mtsai, 2004). Humán bél simaizomzaton Maggi és mtsai kimutatták, hogy a kapszaicin gátló hatást vált ki (Maggi és mtsai, 1988, 1990,a,b). Ez, a kapszaicin- okozta elernyedés TTX-rezisztens. Ahhoz, hogy a szer ingerelje a szenzoros idegvégződéseket és belőlük biológiailag aktív anyagokat szabadítson fel, nem szükséges a feszültségfüggő gyors  $\text{Na}^+$ -csatornák működése, így a válaszok többsége TTX-rezisztens (Maggi, 1995). Az 1990-es években immun-neutralizációs és neurokémiai kísérletek a VIP ill. valamely rokon peptid részvételét látszottak igazolni a kapszaicin hatásában. Ugyanakkor a CGRP – amely állati preparátumokban közvetíti a kapszaicin gátló hatását – emberben valószínűleg nem játszik szerepet (Maggi és mtsai, 1989, 1990a,b). Munkacsoportunk kimutatta, hogy humán szigmbélen a kapszaicin- okozta elernyedésért nagyrészt a nitrogén-monoxid a felelős (Barthó és mtsai, 2002). Később számos gasztrointesztinális preparátumon (emberi vékonybél, appendix, egér colon) igazoltuk az NO kapszaicin-okozta elernyedésben betöltött szerepét (Barthó és mtsai, 2004; Benkó és mtsai, 2005).

Kísérleteinkben az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

1. Vizsgáltuk az exogén VIP relaxáló hatását humán szigmbélen, valamint megvizsgáltuk, vajon részt vesz-e endogén VIP a humán szigmbél NANC gátló válaszaiban. Utóbbi eldöntésére specifikus VIP antagonisták hiányában VIP tachyphylaxiát használtunk.
2. Emellett megpróbáltunk választ kapni arra a kérdésre, hogy emberi szigmbél körkörös izom NANC relaxációjában részt vesznek-e kapszaicin-érzékeny idegek.

## Módszerek és anyagok

Az emberi szigmabél preparátumokat carcinoma miatt bélműtéten átesett páciensek eltávolított bélszakaszainak széli, ép részéből készítettük. Körkörös irányú kb. 2 x 20 mm méretű preparátumokat használtunk, melyekről a nyálkahártyát lemetszettük.

A módszerek azonosak voltak a 2. fejezetben leírtakkal (humán ileum), az alábbi különbségekkel.

Kísérleteink egy részében a VIP (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ) vagy a kapszaicin (0,3  $\mu\text{mol/l}$ ) relaxáló hatását guanetidin (3  $\mu\text{mol/l}$ ) jelenlétében, acetyl-kolinnal (1  $\mu\text{mol/l}$ ) előkontrahált preparátumokon vizsgáltuk. Ezt követően a fürdőben a folyadékot lecseréltük és 40 perces inkubációs idő után a folyamatot megismételtük. Mivel a kontroll kísérleteknél a 2. és 3. VIP adminisztráció reprodukálhatósága megbízhatóbbnak bizonyult, ezért a VIP tachyphylaxia vizsgálatára ezt az intervallumot használtuk kísérleteink során. A VIP tachyphylaxia létrehozására 1  $\mu\text{mol/l}$  VIP-et 1 órára a szervfürdőhöz adtunk, majd ezután alkalmaztuk a kapszaicint (0,3  $\mu\text{mol/l}$ ) ill. a korábban relaxáló VIP dózist (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ). Kísérleteink más részében az idegeket elektromos téringerléssel (Paton és Vizi, 1969) aktiváltuk atropin (1  $\mu\text{mol/l}$ ) és guanetidin (3  $\mu\text{mol/l}$ ) jelenlétében a NANC viszonyok megteremtése végett. 1 óra inkubációs periódus után a preparátumokat hisztaminnal (5  $\mu\text{mol/l}$ ) kontraháltuk elő szubmaximálisan és elektromos ideg ingerlést vagy izoprenalint alkalmaztunk. Az elektromos téringerlés paraméterei: amplitúdó 80 V, impulzusszélesség 0,1 ms, 1 ill. 10 Hz-es frekvencia 20 s-ig.

*Alkalmazott szerek:* Acetyl-kolin-klorid, atropin-szulfát, guanetidin-szulfát, hisztamin-dihidroklorid, kapszaicin,  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginin (L-NOARG), tetrodotoxin (TTX) (Sigma), vazóaktív intesztinális polipeptid (VIP), D,L-izoprenalin-hidroklorid (Isuprel<sup>®</sup>, Abbott).

### Statisztikai módszerek

A válaszok nagyságát a maximális elernyedés %-ában fejeztük ki, melyet a kísérlet végén izoprenalin (8  $\mu\text{mol/l}$ ) segítségével váltottunk ki. Adatainkat átlag  $\pm$  S.E.M. formájában adtuk meg. A statisztikai összehasonlításokat Wilcoxon teszt (két összefüggő minta esetén), Mann-Whitney teszt (két független minta esetén) és Quade teszt (kettőnél több összefüggő minta esetén) segítségével végeztük és  $p < 0,05$  vagy kisebb valószínűséget tekintettünk szignifikánsnak.

## Eredmények

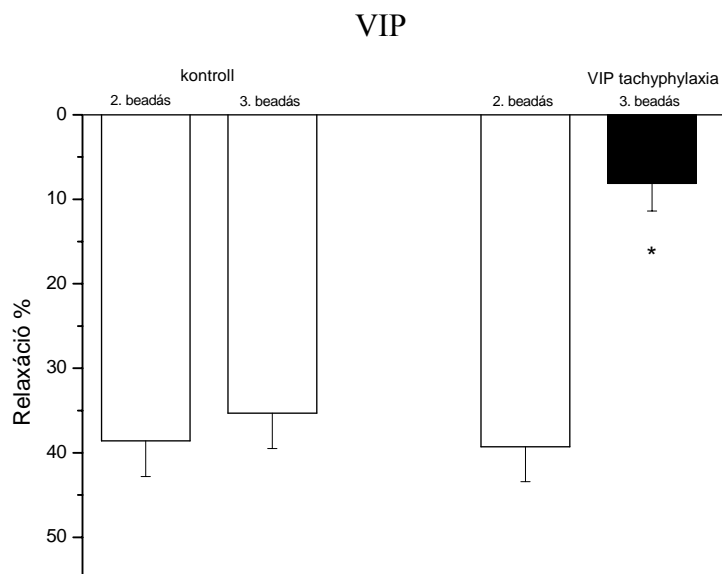
*VIP tachyphylaxia hatása az elektromos téringerlés által kiváltott NANC relaxációra és a kapszaicin-okozta gátló válaszra emberi szigmbélen*

A VIP (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ) majdnem fél-maximális relaxáló hatása reprodukálható volt ( $n=8$ ). A VIP nagy koncentrációja (1  $\mu\text{mol/l}$ ) gyakorlatilag maximális elernyedést okozott, amely azonban a hosszú inkubációs idő alatt megszűnt. Egy órás inkubálás után az acetil-kolin kontraháló hatása megegyezett a VIP előttivel. A VIP tachyphylaxia (1  $\mu\text{mol/l}$  60 percig) erősen gátolta a 0,1  $\mu\text{mol/l}$  VIP hatására létrejövő relaxációt (16. ábra). A kontrolloknál a 3. VIP beadásra kapott válasz a 2. beadás  $91,6 \pm 5,6 \%$ -a, a VIP (1  $\mu\text{mol/l}$ ) jelenlétében azonban csak  $17,7 \pm 6,9 \%$ -a volt. A VIP (1  $\mu\text{mol/l}$  60 percig) nem csökkentette, sőt kicsit növelte az izoprenalinnal kiváltott elernyedést ( $29,2 \pm 4,0 \%$  előtte,  $38,1 \pm 5,3 \%$  VIP beadását követően,  $n=5$ ,  $p<0,05$ ).

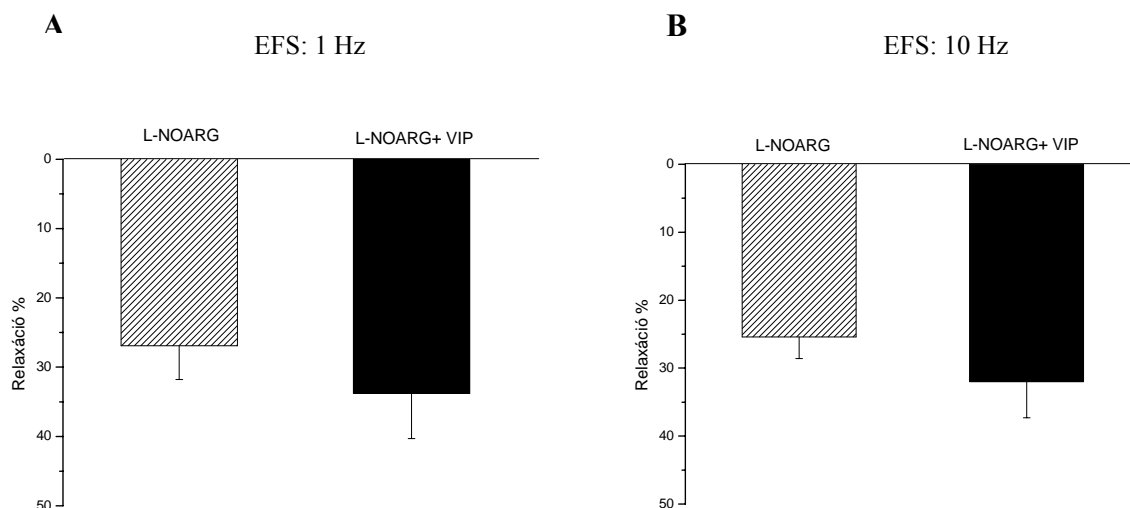
Hisztaminnal előkontrahált humán szigmbél preparátumon elektromos téringerlés (1 Hz illetve 10 Hz) NANC relaxációt hozott létre. A relaxációt TTX mindkét frekvencián kivédte ( $n=5$ ). A VIP tachyphylaxia nem gátolta (valójában valamelyest növelte) a „nem-nitreg” NANC relaxációt (17. ábra).

VIP tachyphylaxia (1  $\mu\text{mol/l}$  60 percig) nem befolyásolta a kapszaicin (0,3  $\mu\text{mol/l}$ ) relaxáló hatását (18. ábra), ami részben alátámasztja ezen eljárás specifikus voltát, részben pedig ellene szól annak, hogy a VIP jelentős szerepet játszana a szenzoros izgató kapszaicin hatásában.



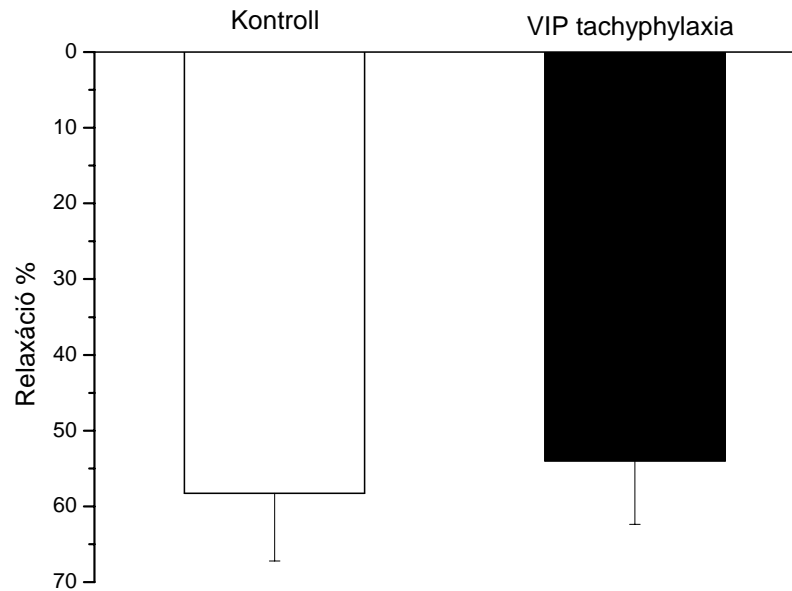


**16. ábra** VIP (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ) hatására létrejövő relaxáció reprodukálhatósága (az ábra a 2. és 3. beadást mutatja), valamint VIP tachyphylaxia (1  $\mu\text{mol/l}$  60 percig, fekete oszlop) hatása a VIP (0,1  $\mu\text{mol/l}$ ) által kiváltott relaxációra acetil-kolinral (1  $\mu\text{mol/l}$ ) előkontrahált humán szigmbél körkörös izom preparátumokon. Az ábra 8 kísérlet (8 különböző beteg) átlagát mutatja  $\pm$  S.E.M; \* $p < 0,05$  a kontroll beadáshoz viszonyítva (Wilcoxon teszt). Függőleges tengely: az izoprenalinnal (8  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.



**17. ábra** VIP tachyphylaxia (fekete oszlopok) hatása az 1 illetve 10 Hz-es elektromos téringerréssel (EFS) kiváltott „nem-nitrerg” NANC relaxációra (csíkozott oszlopok) hisztaminnal (5  $\mu\text{mol/l}$ ) előkontrahált emberi szigmbél körkörös izom preparátumon. Az ábra 7 kísérlet (7 betegből származó preparátumok) átlagát mutatja  $\pm$  S.E.M; n.s. (Wilcoxon teszt). Függőleges tengely: az izoprenalinnal (8  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka. Koncentrációk:  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginin (L-NOARG): 100  $\mu\text{mol/l}$ , VIP: 1  $\mu\text{mol/l}$  60 percre.

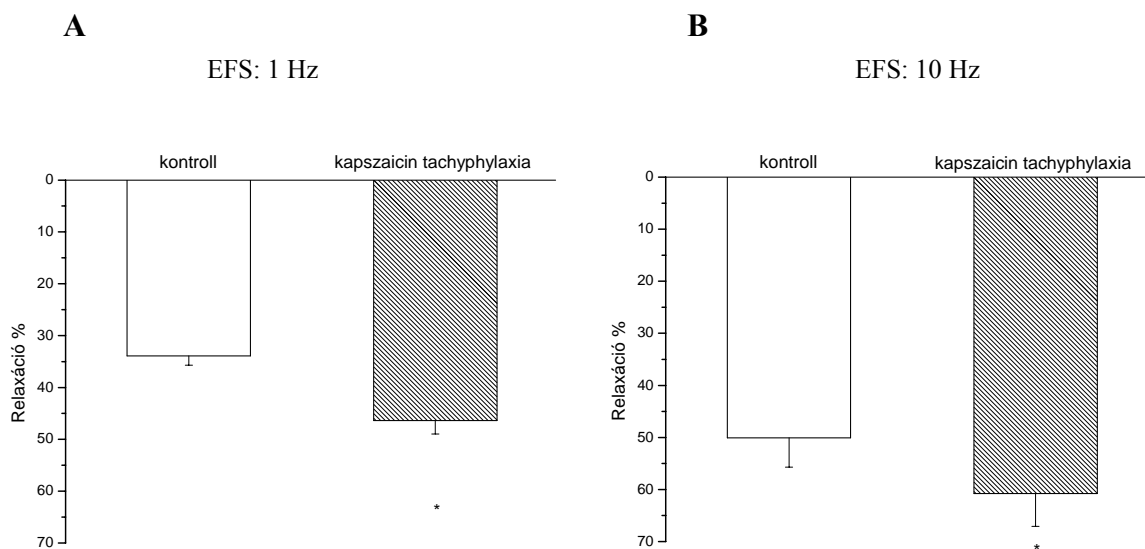
## Kapszaicin



**18. ábra** VIP tachyphylaxia ( $1 \mu\text{mol/l}$  60 percig, fekete oszlop) hatása a kapszaicin ( $0,3 \mu\text{mol/l}$ ) okozta relaxációra acetyl-kolinnal ( $1 \mu\text{mol/l}$ ) előkontrahált emberi szigmbél körkörös izom preparátumon. Az ábra 7 kísérlet (7 betegből származó preparátum) átlagát mutatja  $\pm$  S.E.M; n.s. Függőleges tengely: az izoprenalinnal ( $8 \mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.

*Kapszaicin tachyphylaxia hatása az elektromos ingerléssel kiváltott NANC relaxációra emberi szigmbélen*

Kapszaicin előkezelés (10  $\mu\text{mol/l}$  10 percig, majd 40 perc kimosási periódus) nem csökkentette az 1 ill. 10 Hz frekvenciával kiváltott elektromos ingerlés hatására létrejövő NANC relaxációt (enyhe növekedés volt megfigyelhető,  $n=8$ ; (lásd 19. ábra). 1 Hz esetén a kapszaicin tachyphylaxia utáni ingerlés  $52,6 \pm 20$  %-kal, míg 10 Hz esetén  $33,5 \pm 16$  %-kal növekedett. A NANC relaxációt tetrodotoxin (1  $\mu\text{mol/l}$ ) teljesen kivédte ( $n=6$ ).



**19. ábra** Kapszaicin tachyphylaxia (10  $\mu\text{mol/l}$  10 percig, majd 40 perc kimosási periódus, csíkozott oszlopok) hatása az elektromos ingerléssel (EFS; 1 ill. 10 Hz 20 s) kiváltott NANC relaxációra (üres oszlopok) emberi szigmbél körkörös izom preparátumon. Az ábra 8 kísérlet átlagát mutatja  $\pm$  S.E.M; \* $p < 0,05$  (Wilcoxon teszt). Függőleges tengely: az izoprenalinnal (8  $\mu\text{mol/l}$ ) kiváltott maximális elernyedés százaléka.

## Megbeszélés

A VIP, illetve esetleg a PACAP részvételét a kétféle válaszban nem tudtuk antagonisták segítségével vizsgálni, mert a használt antagonisták nem gátolták az exogén VIP relaxáló hatását. Ebben az irányban további kísérletek szükségesek. Ezért VIP tachyphylaxiát használtunk, amely hatásosnak bizonyult exogén VIP ellen.

A VIP tachyphylaxia nem gátolta sem a kapszaicin, sem az elektromos ingerlés hatását (utóbbi: „nem-nitrerg”). Ehelyett kisérték növekedést tapasztaltunk, amelynek mechanizmusát még nem tudtuk kideríteni. Az mindenesetre nagyon valószínűnek látszik, hogy endogén VIP mint elernyesztő ágens nem vesz részt a NANC relaxációban, illetve a kapszaicin elernyesztő hatásában. A VIP szerepére a NANC gátló válaszokban állatkísérletek szolgáltatottak eredményeket (Grider és mtsai, 1985; Grider és Rivier, 1990). A kapszaicin-okozta gátló válaszban Maggi és mtsai (1989) immun-neutralizáció és release-mérés segítségével bizonyítékot találtak a VIP szerepére, ugyanakkor a szenzoros neuropeptid CGRP szerepét nem tudták kimutatni a válaszban. Annak eldöntésére, hogy kapszaicin-érzékeny (valószínűleg szenzoros) idegek részt vesznek-e a NANC relaxációban, kapszaicin tachyphylaxiát használtunk a kapszaicin-érzékeny idegek funkcionális blokkolására (összefoglaló: Barthó és mtsai, 2004). Kísérleteinkben a kapszaicin tachyphylaxia nem okozott gátlást a NANC relaxációban. A fenti eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy kapszaicin-érzékeny idegek valószínűleg nem vesznek részt az elektromos ingerléssel létrehozott NANC gátló válaszban emberi szigmbélen.

## Összefoglalás

Kutatásaink során végzett kísérleteink a laboratóriumi állatok továbbá az ember zsigeri szerveinek (elsősorban gyomor-bélrendszer) mozgásait szabályozó mechanizmusok feltérképezésére irányultak.

### Kísérleteink során az alábbi új eredményeket kaptuk:

- Megállapítottuk, hogy ATP hatására legalább *három különböző motoros válasz* jön létre tengerimalac ileumon. Az ATP tónusos kontraháló és relaxáló hatásait simaizmon található receptorokon keresztül fejt ki; az utóbbiban NO nem vesz részt.
- Bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy nemcsak az  $\alpha,\beta$ -meATP, hanem a természetes transzmitterjelölt, az ATP is képes izgatni a plexus myentericus kolinerg neuronjait PPADS-érzékeny  $P_2$  purinoceptorok stimulálásával. Valószínűsítettük, hogy az ATP és  $\alpha,\beta$ -meATP által kiváltott kolinerg izgató választ különböző receptorok közvetítik.
- Az  $\alpha,\beta$ -meATP-vel létrehozott tachyphylaxia szelektíven csökkenti a kolinerg motoneuronok elektromos aktiválásával kiváltott kontrakciót, ami arra utal, hogy  $P_{2X}$  purinoceptorok részt vesznek a bél izgató neurotranszmissziójában.
- Direkt bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy  $P_2$  purinoceptor-mediált „purinerg” mechanizmusok részt vesznek humán vékonybél körkörös izomzatának „nem-nitrerg” NANC gátló válaszában, tehát a „nitrerg” és „purinerg” idegek együttesen közvetítik az elektromos ingerlés okozta NANC gátló választ.
- Megállapítottuk, hogy a  $P_{2Y}$  purinoceptor antagonista MRS 2179 alkalmas eszköz a humán vékonybél körkörös izomzat „purinerg” mechanizmusainak tanulmányozására.

- Valószínűsítettük, hogy sem kapszaicin-érzékeny idegek, sem VIP nem vesz részt számottevő mértékben a humán szigmabél elektromos téringerléssel kiváltott NANC gátló válaszában. Nem találtunk bizonyítékot a VIP szerepére a szenzoros izgató kapszaicinnal kiváltott gátló válaszban sem.

Kísérleteink alapkutatás jellegűek, hosszú távon azonban klinikai összefüggésekkel is rendelkezhetnek. Eredményeink hozzájárulhatnak a gyomor-bélhuzam élettani működésének jobb megértéséhez, valamint a motilitászavarok hátterében álló patomechanizmusok feltérképezéséhez és ezáltal új terápiás eljárások kifejlesztéséhez.

A vegetatív idegrendszer klasszikus transzmitter-rendszereit (adrenerg, kolinerg) befolyásoló szerek jelentős részét teszik ki a jelenleg rendelkezésünkre álló terápiás eszköztárnak. A nem-adrenerg, nem-kolinerg (NANC) rendszerek funkciójának mélyebb megismerése számos új gyógyszer kifejlesztéséhez járulhat hozzá.

Mivel a „Dale-elv” alapján a perifériás szövetekben, zsigerekben történő transzmitter-azonosítás eredményei relevanciával bírnak a gerincvelőben, illetve érő agyidegmagvakban lejátszódó folyamatok tekintetében is, ezáltal a NANC transzmitter rendszerek feltérképezése más területeken (gyulladás, nocicepció, fájdalomcsillapítás) hasznosítható eredményeket is szolgáltathat.

## Irodalomjegyzék

- Abbracchio MP, Burnstock G, 1994. Purinoceptors: are there families of P<sub>2X</sub> and P<sub>2Y</sub> purinoceptors? *Pharmacol. Ther.* 64: 445-475.
- Abbracchio MP, Burnstock G, 1998. Purinergic signalling: Pathophysiological roles. *Jpn. J. Pharmacol.* 78: 113-145.
- Alexander SPH, Mathie A, Peters JA, (Eds) 2008. Adenosine receptors. In: *Guide to Receptors and Channels*, 3rd edition, *Br. J. Pharmacol.* 153 (S2): S11-S12.
- Alexander SPH, Mathie A, Peters JA, (Eds) 2008. P<sub>2X</sub> receptors. In: *Guide to Receptors and Channels*. *Br. J. Pharmacol.* 153 (S2): S109-S110.
- Alexander SPH, Mathie A, Peters JA, (Eds) 2008. P<sub>2Y</sub> receptors. In: *Guide to Receptors and Channels*. *Br. J. Pharmacol.* 153 (S2): S76-S77.
- Bao JX, 1993. Sympathetic neuromuscular transmission in rat tail artery. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 610: 1-58.
- Barajas-Lopez C, Barrientos M, Espinoza-Luna R, 1993. Suramin increases the efficacy of ATP to activate an inward current in myenteric neurons from guinea-pig ileum. *Eur. J. Pharmacol.* 250: 141-145.
- Barajas-Lopez C, Huizinga JD, Collins SM, Gerzanich V, Espinoza-Luna R, Peres AL, 1996. P<sub>2X</sub> purinoceptors of myenteric neurones from the guinea-pig ileum and their unusual pharmacological properties. *Br. J. Pharmacol.* 119: 1541-1548.
- Barthó L, Benkó R, Lázár Zs, Illényi L, Horváth ÖP, 2002. Nitric oxide is involved in the relaxant effect of capsaicin in the human sigmoid colon circular muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 366: 496-500.
- Barthó L, Benkó R, Patacchini R, Pethő G, Holzer-Petsche U, Holzer P, Lázár Z, Undi S, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, 2004. Effects of capsaicin on visceral smooth muscle: a valuable tool for sensory neurotransmitter identification. *Eur. J. Pharmacol.* 500: 143-157.
- Barthó L, Lázár Zs, Lénárd LJr, Benkó R, Tóth G, Penke B, Szolcsányi J, Maggi CA, 2000. Evidence for the involvement of ATP, but not of VIP/PACAP or nitric oxide, in the excitatory effect of capsaicin in the small intestine. *Eur. J. Pharmacol.* 392: 183-188.
- Barthó L, Lénárd LJr, Lázár Zs, Maggi CA, 1999a. Connections between P<sub>2</sub> purinoceptors and capsaicin-sensitive afferents in the intestine and other tissues. *Eur. J. Pharmacol.* 375: 203-210.
- Barthó L, Lénárd LJr, Maggi CA, 1997. Evidence for the involvement of P<sub>2</sub> purinoceptors in the cholinergic contraction of the guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 121: 1507-1508.
- Barthó L, Lénárd LJr, Patacchini R, Halmai V, Wilhelm M, Holzer P, Maggi CA, 1999b. Tachykinin receptors are involved in the "local efferent" motor response to capsaicin in the guinea-pig small intestine and oesophagus. *Neuroscience* 90: 221-228.
- Barthó L, Lénárd LJr, Szigeti R, 1998. Nitric oxide and ATP co-mediate the NANC relaxant response in the guinea-pig taenia caeci. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* 358: 496-499.

- Barthó L, Szolcsányi J, 1978. The site of action of capsaicin on the guinea-pig isolated ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 305: 75-81.
- Barthó L, Undi S, Benkó R, Wolf M, 2005. Ideg-simaizom transzmitterek a gyomor-bélhuzamban: A motilitászavarok lehetséges háttere. *Praxis* 14 (12): 14-19.
- Bayliss WM, Starling EH, 1899. The movements and innervation of the small intestine. *J. Physiol.* 24:99-143.
- Benkó R, Lázár Z, Undi S, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, Rumbus Z, Wolf M, Maggi CA, Barthó L, 2005. Inhibition of nitric oxide synthesis blocks the inhibitory response to capsaicin in intestinal circular muscle preparations from different species. *Life Sci.* 76: 2773-2782.
- Benkó R, Undi S, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L, 2007. P<sub>2</sub> purinoceptor antagonists inhibit the NANC relaxation of the human colon in vitro. *Neuroscience.* 147:146-152.
- Benkó R, Undi S, Wolf M, Magyar K, Tóvölgyi Z, Rumbus Z, Barthó L, 2006. P<sub>2</sub> purinoceptors account for the non-nitrgic NANC relaxation in the rat ileum. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* 373: 319-324.
- Bennett MR, 1997. Non-adrenergic non-cholinergic (NANC) transmission to smooth muscle: 35 years on. *Prog. Neurobiol.* 52: 159-195.
- Bertrand PP, 2003. ATP and sensory transduction in the enteric nervous system. *The Neuroscientist* 9(4): 243-260.
- Bo X, Jiang LH, Wilson HL, Kim M, Burnstock G, Surprenant A, North RA, 2003. Pharmacological and biophysical properties of the human P2X<sub>5</sub> receptor. *Molec. Pharmacol.* 63: 1407-1416.
- Bodin P, Bailey D, Burnstock G, 1991. Increased flow-induced ATP release from isolated vascular endothelial cells but not smooth muscle cells. *Br. J. Pharmacol.* 103: 1203-1205.
- Bodin P, Burnstock G, 2001. Purinergic signalling: ATP release. *Neurochem. Res.* 26: 959-969.
- Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Herman AG, Van Maercke YM, 1993. Involvement of nitric oxide in the inhibitory innervation of the human isolated colon. *Gastroenterology* 104:690-697.
- Bornstein JC, 2008. Purinergic mechanisms in the control of gastrointestinal motility. *Purinergic signalling* 4: 197-212.
- Boyer JL, Romero-Avilla T, Schachter JB, Harden TK, 1996. Identification of competitive antagonists of the P2Y<sub>1</sub> receptor. *Mol Pharmacol.* 50: 1323-9.
- Boyer JL, Zohn IE, Jacobson KA, Harden TK, 1994. Differential effects of P<sub>2</sub>-purinoceptor antagonists on phospholipase C- and adenylyl cyclase-coupled P<sub>2Y</sub>-purinoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 113: 614-620.
- Brehmer A, Schrödl F, Neuhuber W, 1999. Morphological classifications of enteric neurons – 100 years after Dogiel. *Anat. Embryol.* 200: 125-135.
- Bult H, Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Jordaens FH, Van Maercke YM, Herman AG, 1990. Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature* 345: 346-347.
- Burleigh DE, 1992. N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine reduces nonadrenergic, noncholinergic relaxations of human gut. *Gastroenterology* 102:679-683.
- Burnstock G, 1972. Purinergic nerves. *Pharmacol. Rev.* 24: 509-581.



- Burnstock G, 1990. Overview: Purinergic mechanisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 603: 1-18.
- Burnstock G, 1997. The past, present and future of purine nucleotides as signalling molecules. *Neuropharmacol.* 36: 1127-1139.
- Burnstock G, 2001. Purine-mediated signalling in pain and visceral perception. *TRENDS in Pharmacol. Sci.* 22(4): 182-188.
- Burnstock G, 2004. Cotransmission. *Curr. Opin. Pharmacol.* 4(1): 47-52.
- Burnstock G, 2006a. Historical review: ATP as a neurotransmitter. *TRENDS in Pharmacol. Sci.* 27(3):166-176.
- Burnstock G, 2006b. Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signalling. *Pharmacol. Rev.* 58: 58-86.
- Burnstock G, 2007. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiol. Rev.* 87: 659-797.
- Burnstock G, Wood J, 1996. Purinergic receptors: their role in nociception and primary afferent neurotransmission. *Current Opinion in Neurobiology* 6: 526-532.
- Bültmann R, Trendelenburg M, Tuluc F, Wittenburg H, Starke K, 1999. Concomitant blockade of P2X-receptors and ecto-nucleotidases by P2-receptor antagonists: functional consequences in rat vas deferens. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 359: 339-344.
- Caterina MJ, Julius D, 2001. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Ann. Rev. Neurosci.* 24: 487-517.
- Chaudary N, Naydenova Z, Shuralyova I, Coe IR, 2004. Hypoxia regulates the adenosine transporter, mENT1, in the murine cardiomyocyte cell line, HL-1. *Cardiovascular Research* 61: 780-788.
- Costa M, Brookes SJ, 1994. The enteric nervous system. *Am. J. Gastroenterol.* 89 (Suppl): S129- S137.
- Costa M, Brookes SJ, Hennig G, 2000. Anatomy and physiology of the enteric nervous system. 47(S4): 15-19.
- Cunha RA, 2001. Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous system: different roles, different sources and different receptors. *Neurochem. Int.* 38: 107-125.
- Damer S, Niebel B, Czeche S, Nickel P, Ardanuy U, Schmalzing G, Rettinger J, Mutschler E, Lambrecht G, 1998. NF279: a novel potent and selective antagonist of P<sub>2X</sub> receptor-mediated responses. *Eur. J. Pharmacol.* 350: R5-6.
- De Man JG, De Winter BY, Seerden TC, De Schepper HU, Herman AG, Pelckmans PA, 2003. Functional evidence that ATP or a related purine is an inhibitory NANC neurotransmitter in the mouse jejunum: study on the identity of P<sub>2X</sub> and P<sub>2Y</sub> purinoceptors involved. *Br. J. Pharmacol.* 140: 1108-1116.
- Dockray GJ, 1994. Physiology of enteric neuropeptides. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 3rd ed., ed. Johnson LR; Raven Press, New York, pp. 169-209.
- Drury AN, Szent-Györgyi A, 1929. The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart. *J. Physiol.* 68: 213-237.
- Dunn PM, Blakeley AG, 1988. Suramin: a reversible P<sub>2</sub> purinoceptor antagonist in the mouse vas deferens. *Br. J. Pharmacol.* 93:243-245.
- Furness JB, 2000. Types of neurons in the enteric nervous system. *J. Auton. Nerv. Syst.* 81: 87-96.

- Furness JB, Costa M, 1980. Types of nerves in the enteric nervous system. *Neuroscience* 5: 1-20.
- Furness JB, Jones C, Nurgali K, Clerc N, 2004. Intrinsic primary afferent neurons and nerve circuits within the intestine. *Prog. Neurobiol.* 72: 143-164.
- Gallego D, Hernandez P, Clavé P, Jimenez M, 2006. P2Y1 receptors mediate inhibitory purinergic neuromuscular transmission in the human colon. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 291(4): G584-594.
- Galligan JJ, 2002. Pharmacology of synaptic transmission in the enteric nervous system. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2: 623-629.
- Galligan JJ, 2008. Purinergic signalling in the gastrointestinal tract. *Purinergic signalling* 4:195-196.
- Galligan JJ, Bertrand PP, 1994. ATP mediates fast synaptic potentials in enteric neurons. *J. Neurosci.* 14: 7563-7571.
- Glänzel M, Bültmann R, Starke K, Frahm AW, 2003. Constitutional isomers of Reactive Blue 2 – selective P2Y-receptor antagonists? *Eur. J. Med. Chem.* 38(3): 303-312.
- Goyal RK, Hirano I, 1996. The enteric nervous system. *New England J. Med.* 334: 1106-1115.
- Grider JR, Cable MB, Bitar KN, Said, SI, Makhlouf, G, 1985. Vasoactive intestinal peptide. Relaxant neurotransmitter in taenia coli of the guinea-pig. *Gastroenterology* 89: 36-42.
- Grider JR, Rivier JR, 1990. Vasoactive intestinal peptide (VIP) as transmitter of inhibitory motor neurons of the gut: evidence from the use of selective VIP antagonists and VIP antiserum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 253: 738-742.
- Hansen MB, 2003a. The enteric nervous system I: Organisation and Classification. *Pharmacol. Toxicol.* 92: 105-113.
- Hansen MB, 2003b. The enteric nervous system II: Gastrointestinal Functions. *Pharmacol. Toxicol.* 92: 249-257.
- Hansen MB, 2003c. The enteric nervous system III: A target for Pharmacological Treatment. *Pharmacol. Toxicol.* 93: 1-13.
- Harmar AJ, Arimura A, Gozes I, Journot L, Laburthe M, Pisegna JR, Rawlings SR, Robberecht P, Said AI, Sreedharan SP, Wank SA, Waschek JA, 1998. International Union of Pharmacology. XVIII. Nomenclature of receptors for vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide. *Pharmacol Rev.* 50: 265-270.
- Hata F, Takeuchi T, Nishio H, Fujita A, 2000. Mediators and intracellular mechanisms of NANC relaxation of smooth muscle in the gastrointestinal tract. *J. Smooth Muscle Res.* 36: 181-204.
- Heinemann A., Shahbazian A, Barthó L, Holzer P, 1999. Different receptors mediating the inhibitory action of exogenous ATP and endogenously released purines on the guinea-pig intestinal peristalsis. *Br. J. Pharmacol.* 128: 313-320.
- Hinds NM, Ullrich K, Smid SD, 2006. Cannabinoid (CB1) receptors coupled to cholinergic motoneurons inhibit neurogenic circular muscle contractility in the human colon. *Br. J. Pharmacol.* 148(2): 191-199.
- Hirst GD, Holman ME, Spence I, 1974. Two types of neurones in the myenteric plexus of duodenum in the guinea-pig. *J. Physiol. (London)* 236: 303-326.

- Holton P, 1959. The liberation of adenosine triphosphate on antidromic stimulation of sensory nerves. *J. Physiol. (London)* 145: 494-504.
- Holzer P, 1991. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* 43: 144-201.
- Holzer P, 2007. Role of visceral afferent neurons in mucosal inflammation and defense. *Curr. Opin. Pharmacol.* 7: 563-569.
- Hoyle CH, 1994. Non-adrenergic, non-cholinergic control of the urinary bladder. *World J. Urol.* 12: 233-244.
- Hoyle CH, Chapple C, Burnstock G, 1989. Isolated human bladder: evidence for an adenine dinucleotide acting on P<sub>2X</sub>-purinoceptors and for purinergic transmission. *Eur. J. Pharmacol.* 174: 115-118.
- Hoyle CH, Knight GE, Burnstock G, 1990. Suramin antagonizes responses to P<sub>2</sub>-purinoceptor agonists and purinergic nerve stimulation in the guinea-pig urinary bladder and taenia coli. *Br. J. Pharmacol.* 99:617-621.
- Huidobro-Toro JP, Yoshimura K, 1983. Pharmacological characterization of the inhibitory effects of neurotensin on the rabbit ileum myenteric plexus preparation. *Br. J. Pharmacol.* 80: 645-653.
- Jiang LH, Mackenzie AB, North RA, Surprenant A, 2000. Brilliant blue G selectively blocks ATP-gated rat P2X<sub>7</sub> receptors. *Mol. Pharmacol.* 58: 82-88.
- Keef KD, Du C, Ward SM, McGregor B, Sanders KM, 1993. Enteric inhibitory neural regulation of human colonic circular muscle: role of nitric oxide. *Gastroenterology* 105: 1009-1016.
- Kennedy C, Leff P, 1995. Painful connection for ATP. *Nature* 377: 385-386.
- Kennedy I, Humphrey PP, 1994. Evidence for the presence of two types of P<sub>2</sub> purinoceptor in the guinea-pig ileal longitudinal smooth muscle preparation. *Eur. J. Pharmacol.* 261: 273-280.
- Khakh BS, Burnstock G, Kennedy C, King BF, North RA, Séguéla P, Voight M, Humphrey PP, 2001. International Union of Pharmacology. XXIV. Current status of the nomenclature and properties of P<sub>2X</sub> receptors and their subunits. *Pharmacol. Rev.* 53: 107-118.
- Kimball BC, Yule DI, Mulholland MW, 1996. Extracellular ATP mediates Ca<sup>2+</sup> signaling in cultured myenteric neurons via a PLC-dependent mechanism. *Am. J. Physiol.* 270: G587-G593.
- King BF, Wildman SS, Ziganshina LE, Pintor J, Burnstock G, 1997. Effects of extracellular pH on agonism and antagonism at a recombinant P2X<sub>2</sub> receptor. *Br. J. Pharmacol.* 121: 1445-1453.
- Kishi M, Takeuchi T, Suthamnatpong N, Ishii T, Nishio H, Hata F, Takewaki T, 1996. VIP- and PACAP-mediated nonadrenergic, noncholinergic inhibition in longitudinal muscle of rat distal colon: involvement of activation of charybdotoxin- and apamin-sensitive K<sup>+</sup> channels. *Br. J. Pharmacol.* 119: 623-630.
- Kong W, Engel K, Wang J, 2004. Mammalian nucleoside transporters. *Curr. Drug Metab.* 5(1): 63-84.
- Kortezova N, Velkova V, Mizhorkova G, Bredy-Dobreva G, Vizi ES, Papasova M, 1994. Participation of nitric oxide in the nicotine-induced relaxation of the cat lower esophageal sphincter. *J. Aut. N. Syst.* 50: 73-78.
- Kunze WA, Furness JB, 1999. The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. *Ann. Rev. Physiol.* 61: 117-142.

- Lambrecht G, 2000. Agonists and antagonists acting at P<sub>2X</sub> receptors: selectivity profiles and functional implications. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 362: 340-350.
- Lambrecht G, Friebe T, Grimm U, Windscheif U, Bungardt E, Hildebrandt C, Bäumert HG, Spatz-Kümbel G, Mutschler E, 1992. PPADS, a novel functionally selective antagonist of P<sub>2</sub>-purinoceptor mediated responses. *Eur. J. Pharmacol.* 217: 217-219.
- Langley JN, 1921. The autonomic nervous system. Part 1. W. Heffer and Sons Ltd., Cambridge
- Lecci A, Santicioli P, Maggi CA, 2002. Pharmacology of transmission to gastrointestinal muscle. *Current Opinion in Pharmacology* 2: 630-641.
- LePard KJ, Messori E, Galligan JJ, 1997. Purinergic fast excitatory post-synaptic potentials in myenteric neurons of guinea-pig: distribution and pharmacology. *Gastroenterology* 113: 1522-1534.
- Maggi CA, Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Turini D, Barbanti G, Beneforti P, Misuri D, Meli A, 1988. Specific motor effects of capsaicin on human jejunum. *Eur. J. Pharmacol.* 149: 393-395.
- Maggi CA, 1995. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. *Prog. Neurobiol.* 45: 1-98.
- Maggi CA, Barbanti G, Turini D, Giuliani S, 1991. Effect of N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) and N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (L-NOARG) on non-adrenergic, non-cholinergic relaxation in the circular muscle of the human ileum. *Br. J. Pharmacol.* 103: 1970-1972.
- Maggi CA, Giuliani S, Santicioli P, Patacchini R, Said SI, Theodorsson E, Turini D, Barbanti G, Giachetti A, Meli A, 1990a. Direct evidence for the involvement of vasoactive intestinal polypeptide in the motor response of the human isolated ileum to capsaicin. *Eur. J. Pharmacol.* 185: 169-178.
- Maggi CA, Santicioli P, Del Bianco E, Geppetti P, Barbanti G, Turini D, Meli A, 1989. Release of VIP-but not CGRP-like immunoreactivity by capsaicin from the human isolated small intestine. *Neurosci. Lett.* 98: 317-320.
- Maggi CA, Theodorsson E, Santicioli P, Patacchini R, Barbanti G, Turini D, Renzi D, Giachetti A, 1990b. Motor response of the human isolated colon to capsaicin and its relationship to release of vasoactive intestinal polypeptide. *Neuroscience* 39: 833-841.
- Matsuo K, Katsuragi T, Fujiki S, Sato C, Furukawa T, 1997. ATP release and contraction mediated by different P<sub>2</sub>-receptor subtypes in guinea-pig ileal smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 121: 1744-1748.
- Moody CJ, Burnstock G, 1982. Evidence for the presence of P<sub>1</sub>-purinoceptors on cholinergic terminals in the guinea-pig ileum. *Eur. J. Pharmacol.* 77: 1-9.
- Murr MM, Balsiger BM, Farrugia G, Sarr MG, 1999. Role of nitric oxide, vasoactive intestinal polypeptide, and ATP in inhibitory neurotransmission in human jejunum. *J. Surg. Res.* 84: 8-12.
- Murthy KS, Makhlof GM, 1998. Coexpression of ligand-gated P<sub>2X</sub> and G protein-coupled P<sub>2Y</sub> receptors in smooth muscle. Preferential activation of P<sub>2Y</sub> receptors coupled to phospholipase C (PLC)-beta1 via Galphaq/11 and to PLC-beta3 via Gbetagammai3. *J. Biol. Chem.* 273: 4695-4704.
- Novak I. 2003. ATP as a signalling molecule: the exocrine focus. *News Physiol. Sci.* 18: 12-17.

- Novak I. 2008. Purinergic receptors in the endocrine and exocrine pancreas. *Purinergic Signalling* 4:237-253.
- Palea S, Artibani W, Ostardo E, Trist DG, Pietra C, 1993. Evidence for purinergic neurotransmission in human urinary bladder affected by interstitial cystitis. *J. Urol.* 150: 2007-2012.
- Paton WDM, Vizi ES, 1969. The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea-pig ileum longitudinal muscle strip. *Br. J. Pharmacol.* 35(1): 10-28.
- Powley TL, 2000. Vagal input to the enteric nervous system. *Gut. (Suppl IV)* 47: 30-32.
- Rae MG, Muir TC, 1996. Neuronal mediators of inhibitory junction potentials and relaxation in the guinea-pig internal anal sphincter. *J. Physiol.* 493 (Pt 2): 517-527.
- Ralevic V, Burnstock G, 1998. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol. Rev.* 50: 413-492.
- Reese JH, Cooper JR, 1982. Modulation of the release of acetylcholine from ileal synaptosomes by adenosine and adenosine 5'-triphosphate. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 223: 612-616.
- Ren J, Bertrand PP, 2008. Purinergic receptors and synaptic transmission in enteric neurons. *Purinergic signalling* 4: 255-266.
- Rettinger J, Schmalzing G, Damer S, Müller G, Nickel P, Lambrecht G, 2000. The suramin analogue NF279 is a novel and potent antagonist selective for the P2X<sub>1</sub> receptor. *Neuropharmacology* 39: 2044-2053.
- Robson SC, Sévigny J, Zimmermann H, 2006. The E-NTPDase family of ectonucleotidases: Structure function relationships and pathophysiological significance. *Purinergic Signalling* 2: 409-430.
- Said SI, Mutt V, 1972. Isolation from porcine intestinal wall of a vasoactive octacosapeptide related to secretin and to glucagon. *Eur. J. Biochem.* 28: 199-204.
- Said SI, Rattan S, 2004. The multiple mediators of neurogenic smooth muscle relaxation. *Trends Endocrinol. Metabol.* 15: 189-191.
- Sawyer GW, Lambrecht G, Ehlert FJ, 2000. Functional role of muscarinic M(2) receptors in alpha,beta-methylene ATP induced, neurogenic contractions in guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 129: 1458-1464.
- Sawynok J, Jhamandas KH, 1976. Inhibition of acetylcholine release from cholinergic nerves by adenosine, adenine nucleotides and morphine: antagonism by theophylline. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 197: 379-390.
- Schwörer H, Katsoulis S, Creutzfeldt W, Schmidt WE, 1992. Pituitary adenylate cyclase activating peptide, a novel VIP-like gut-brain peptide, relaxes the guinea-pig taenia caeci via apamin-sensitive potassium channels. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 346: 511-514.
- Shahbazian A, Holzer P, 2000. Regulation of guinea-pig intestinal peristalsis by endogenous endothelin acting at ET<sub>B</sub> receptors. *Gastroenterology.* 119: 80-88.
- Shan LH, Nishiyama M, Shibasaki T, Moroi K, Goto K, Masaki T, Kimura S, 1996. Endothelin ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub> receptors mediate endothelin-1-induced apamin-sensitive relaxation in the guinea pig ileum. *Jpn. J. Pharmacol.* 70: 259-267.
- Smits GJM, Lefebvre RA, 1996. ATP and nitric oxide: inhibitory NANC neurotransmitters in the longitudinal muscle-myenteric plexus preparation of the rat ileum. *Br. J. Pharmacol.* 118: 695-703.

- Spencer NJ, Walsh M, Smith TK, 2000. Purinergic and cholinergic neuro-neuronal transmission underlying reflexes activated by mucosal stimulation in the isolated guinea-pig ileum. *J. Physiology* 522: 321-331.
- Sperlágh B, Vizi ES, 1991. Effect of presynaptic P<sub>2</sub> receptor stimulation on transmitter release. *J. Neurochem.* 56: 1466-1470.
- Sperlágh B, Vizi ES, 1996. Neuronal synthesis, storage and release of ATP. *Seminars in the Neurosciences.* 8: 175-186.
- Szolcsányi J, 1996. Capsaicin-sensitive sensory nerve terminals with local and systemic efferent functions: facts and scopes of an unorthodox neuroregulatory mechanism. *Prog. Brain Res.* 113: 343-359.
- Szolcsányi J, Barthó L, 1978. New type of nerve-mediated cholinergic contractions of the guinea-pig small intestine and its selective blockade by capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 305: 83-90.
- Szolcsányi J, Barthó L, 2001. Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastroprotection: an update. *J. Physiol. Paris.* 95: 181-188.
- Tam FS, Hillier K, 1992. The role of nitric oxide in mediating non-adrenergic non-cholinergic relaxation in longitudinal muscle of human taenia coli. *Life Sci.* 51:1277-1284.
- Thorn JA, Jarvis SM, 1996. Adenosin transporters. *Gen. Pharmacol.* 27(4): 613-620.
- Trendelenburg P, 1917. Physiologische und pharmakologische Versuche über die Dünndarmperistaltik. *Arch. Exppl. Pathol. Pharmacol.* 81: 55-129.
- Vizi ES, 1979. Presynaptic modulation of neurochemical transmission. *Prog. Neurobiol.* 12: 181-290.
- von Kügelgen I, Wetter A, 2000. Molecular Pharmacology of P<sub>2</sub>Y receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 362: 310-323.
- Watt AJ, 1982. Direct and indirect effects of adenosine 5'-triphosphate on guinea-pig ileum. *Br. J. Pharmacol.* 77: 725-730.
- Wiklund NP, Gustafsson LE, 1988a. Indications for P<sub>2</sub> purinoceptor subtypes in guinea-pig smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 148: 361-370.
- Wiklund NP, Gustafsson LE, 1988b. Agonist and antagonist characterization of the P<sub>2</sub>-purinoceptors in the guinea-pig ileum. *Acta. Physiol. Scand.* 132: 15-21.
- Williams M, 1999. Developments in P<sub>2</sub> receptor targeted therapeutics. *Prog. Brain Res.* 120: 93-106.
- Windscheif U, Ralevic V, Bäumert HG, Mutschler E, Lambrecht G, Burnstock G, 1994. Vasoconstrictor and vasodilator responses to various agonists in the rat perfused mesenteric arterial bed: selective inhibition by PPADS of contractions mediated via P<sub>2X</sub>-purinoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 113: 1015-1021.
- Wirkner K, Sperlágh B, Illes P, 2007. P<sub>2X</sub><sub>3</sub> receptor involvement in pain states. *Mol. Neurobiol.* 36: 165-183.
- Wood JD, 1994. Physiology of the enteric nervous system. In: Johnson, L.R. (Ed.) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 3<sup>rd</sup> ed. Raven Press, New York, pp. 423-475.
- Xue L, Farrugia G, Sarr MG, Szurszewski JH, 1999. ATP is a mediator of the fast inhibitory junction potential in human jejunal circular smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 276: G1373-1379.

- Yamaji M, Ohta M, Yamazaki Y, Fujinami K, Fujita A, Takeuchi T, Hata F, Takewaki T, 2002. A possible role of neurotensin in NANC relaxation of longitudinal muscle of the jejunum and ileum of Wistar rats. *Br. J. Pharmacol.* 137: 629-636.
- Yoshida M, Homma Y, Inadome A, Yono M, Seshita H, Miyamoto Y, Murakami S, Kawabe K, Ueda S, 2001. Age-related changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in human isolated bladder smooth muscles. *Exp. Gerontol.* 36: 99-109.
- Zagorodnyuk V, Maggi CA, 1998. Pharmacological evidence for the existence of multiple  $P_2$  receptors in the circular muscle of guinea-pig colon. *Br. J. Pharmacol.* 123: 122-128.
- Zagorodnyuk V, Santicoli P, Maggi CA, Giachetti A, 1996. The possible role of ATP and PACAP as mediators of apamin-sensitive NANC inhibitory junction potentials in circular muscle of guinea-pig colon. *Br. J. Pharmacol.* 119: 779-786.
- Zhou X, Galligan JJ, 1996.  $P_{2X}$  purinoceptors in cultured myenteric neurons of guinea-pig small intestine. *J. Physiol. Lond.* 496: 719-729.
- Zimmermann H, 2000. Extracellular metabolism of ATP and other nucleotides. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.* 362: 299-309.
- Zimmermann H, 2001. Ectonucleotidases: Some recent developments and a note on nomenclature. *Drug Dev. Res.* 52: 44-56.

## A PhD-értekezés alapjául szolgáló közlemények

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Barthó L, 2005. Effects of acute administration of and tachyphylaxis to  $\alpha,\beta$ -methylene ATP in the guinea-pig small intestine. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 97: 369-373. IF: 1,5

Barthó L, **Undi S**, Benkó R, Wolf M, Lázár Zs, Lénárd LJr, Maggi CA, 2006. Multiple motor effects of ATP and their inhibition by PPADS in the small intestine of the guinea-pig. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 98: 488-495. IF: 1,8

**Undi S**, Benkó R, Wolf M, Illényi L, Horváth ÖP, Antal A, Csontos Z, Vereczkei A, Barthó L, 2006. Purinergic nerves mediate the non-nitric relaxation of the human ileum in response to electrical field stimulation. *Brain Research Bulletin* 71: 242-244. IF: 1,7

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L, 2007. P<sub>2</sub> purinoceptor antagonists inhibit the NANC relaxation of the human colon *in vitro*. *Neuroscience*. 147:146-152. IF: 3,5

**Undi S**, Benkó R, Wolf M, Illényi L, Vereczkei A, Cseke L, Kelemen D, Horvath ÖP, Barthó L. The NANC relaxation of the human ileal longitudinal and circular muscles is inhibited by MRS 2179, a P2Y purinoceptor antagonist (*elbírálás alatt-Life Sciences*)



## Egyéb, az értekezés témájához kapcsolódó közlemények

- Barthó L, Benkó R, Patacchini R, Pethő G, Holzer-Petsche U, Holzer P, Lázár Zs, **Undi S**, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, 2004. Effects of capsaicin on visceral smooth muscle: a valuable tool for sensory neurotransmitter identification. *Eur. J. Pharmacol.* 500: 143-157. IF: 2,4
- Benkó R, Lázár Zs, **Undi S**, Illényi L, Antal A, Horváth ÖP, Rumbus Z, Wolf M, Maggi CA, Barthó L, 2005. Inhibition of nitric oxide synthesis blocks the inhibitory response to capsaicin in intestinal circular muscle preparations from different species. *Life Sci.* 76: 2773-2782. IF: 2,5
- Barthó L, **Undi S**, Benkó R, Wolf M, 2005. Ideg-simaizom transzmitterek a gyomor-bélhuzamban: A motilitászavarok lehetséges háttere. *Praxis 14 (12): 14-19.*
- Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Magyar K, Tóvölgyi Z, Rumbus Z, Barthó L, 2006. P<sub>2</sub> purinoceptors account for the non-nitroergic NANC relaxation in the rat ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 373: 319-324. IF: 2,8
- Barthó L, Benkó R, Holzer-Petsche U, Holzer P, **Undi S**, Wolf M, 2008. Role of extrinsic afferent neurone in gastrointestinal motility. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 12(S 1): 21-31.

### Az értekezés témájához kapcsolódó előadáskivonatok

**Undi S**, Benkó R, Wolf M, Magyar K, Barthó L. Effect of a guanylate cyclase inhibitor on smooth muscle responses due to electrical field stimulation (EFS) and on the peristaltic reflex. *Inflammopharmacology*, 2005, 13(5-6): 572-573.

**Undi S**, Benkó R, Wolf M, Lázár Zs, Lénárd L Jr., Maggi CA, Barthó L. Effects of ATP and alpha, beta-methylene ATP (ABMA) and their inhibition by PPADS in the non-stimulated and field-stimulated guinea-pig ileum. *Acta Pharmacologica Sinica* 2006, 27S 1:111. IF: 1,1

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Magyar K, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth OP, Antal A, Barthó L. NO and ATP co-mediate the non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) relaxation in the human colon and rat ileum. *Acta Pharmacologica Sinica* 2006, 27S 1:110-111. IF: 1,1

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Barthó L. Nitrergic-purinergeric interactions in the guinea-pig, rat, and human intestine. *Acta Physiologica Hungarica*, 2005, 92(3-4): 244-245.

### Az értekezés témájához kapcsolódó kongresszusi szereplések

Benkó R, Lázár Zs, **Undi S**, Rumbus Z, Wolf M, Barthó L. A nitrogén-monoxid szerepe a kapszaicin hatásában különböző fajok bél körkörös izomzatán. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) kongresszusa, Debrecen, 2004. június 7-9.*

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Barthó L. Nitrerg-purinerger interakciók tengerimalac-, patkány- és humán izolált bélen. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) kongresszusa, Budapest, 2005. június 2-4.*

Barthó L, Benkó R, **Undi S**, Pethő G. Sensory neurotransmitters and modulators: the basis of analgesic research. *1<sup>st</sup> BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Siófok, Hungary, September 26-28, 2005.*

**Undi S**, Benkó R, Wolf M, Magyar K, Barthó L. A guanilat-cikláz gátló ODQ hatása az elektromos téringerléssel kiváltott simaizom-válaszokra és a perisztaltikus reflexre. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavaszi Szimpóziuma, Budapest, 2005. 06.06-07.*

Wolf M, **Undi S**, Benkó R, Magyar K, Tóvölgyi Z, Barthó L. Egy guanilat-cikláz gátló vegyület hatása az elektromos téringerléssel kiváltott simaizom-válaszokra és a perisztaltikus reflexre. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9.*

**Undi S**, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Cseke L, Kassai M, Vereczkei A, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L. Purinerg gátló válasz humán ileumon. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9.*

**Undi S**, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Antal A, Horváth ÖP, Barthó L. P<sub>2</sub> purinoceptor antagonisták gátló hatása human colon NANC relaxációjára *in vitro*. *A Magyar Experimentális Farmakológia Szimpóziuma, Pécs, 2006. június 3.*

Benkó R, **Undi S**, Wolf M, Magyar K, Illényi L, Kassai M, Cseke L, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L. NO and ATP co-mediate the non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) relaxation in the human colon and rat ileum. *15th World Congress of Pharmacology, IUPHAR, Peking, 2006. július 2-7.*

**Undi S**, Benkó R, Wolf M, Lázár Zs, Lénárd LJr, Maggi CA, Barthó L. Effects of ATP and alpha, beta-methylene ATP (ABMA) and their inhibition by PPADS in the non-stimulated and field-stimulated guinea-pig ileum. *15th World Congress of Pharmacology, IUPHAR, Peking, 2006. július 2-7.*

**Undi S**, Wolf M, Benkó R, Illényi L, Cseke L, Kassai M, Vereczkei A, Horváth ÖP, Antal A, Barthó L. Purinergic nerves mediate the non-nitroergic relaxation of the human ileum in response to electrical field stimulation. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavaszi Szimpóziuma, Budapest, 2007. június 1-2.*

Wolf M, **Undi S**, Benkó R, Barthó L. NANC inhibitory mechanisms of the guinea-pig and the rat sigmoid colon. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavaszi Szimpóziuma, Budapest, 2007. június 1-2.*

Barthó L, Benkó R, **Undi S**, Wolf M. Effects of capsaicin on smooth muscles in vitro: a valuable tool for identifying sensory neurotransmitters. *A Magyar Experimentális Farmakológia Tavaszi Szimpóziuma, Budapest, 2007. június 1-2.*

**Undi S**, Wolf M, Benkó R, Barthó L. A hidrogén-szulfid (H<sub>2</sub>S) hatásai zsigeri simaizom preparátumokon. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, 2007. június 6-8.*

Wolf M, **Undi S**, Benkó R, Barthó L. Nem adrenerg, nem-kolinerg (NANC) válaszok mechanizmusainak vizsgálata tengerimalac- és patkány szigmbél preparátumokon. *A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, 2007. június 6-8.*

Benkó R, Wolf M, **Undi S**, Rapp H, Maggi CA, Barthó L. Is VIP involved in nerve-mediated relaxations of the human colonic circular muscle? *European Opioid Conference- European Neuropeptide Club, Ferrara, Italy, April 8-11, 2008.*

## A PhD-értekezéssel összefüggésben nem álló közlemények

Király Á, Csizmadia Cs, **Undi S**, Illés A, Nagy L. A gastrooesophagealis reflux betegség (GERD) diagnosztikája és gyógyszeres kezelése. Granum 2004 június, 5-9, különszám

Király Á, **Undi S**, Illés A. A funkcionális obstipatio diagnosztikus és terápiás lehetőségei. Granum, 2005. szeptember, 37-41.

Király Á, Illés A, **Undi S**. A nem erozív reflux betegség. Granum, 2005. szeptember, 31-35.

Király Á, Illés A, **Undi S**, Varga G, Kalmár K, Horvath ÖP. Gastroesophageal reflux disease progressing to achalasia. Disease of the Esophagus 2005, 18 (5):355-358. IF:0,9

Király Á, Csizmadia Cs, Illés A, **Undi S**. A visceralis hyperaesthesia vizsgálata irritábilis bél szindrómában. Orvosi Hetilap, 2006, 147 (9): 421-426.

### A PhD-értekezéssel összefüggésben nem álló, nemzetközi folyóiratban megjelent idézhető absztraktok:

Czimmer J, Falusi B, Király Á, Sütő G, **Undi S**, Mózsik Gy. Peripheral nitric oxide mediates the inhibition of gastric secretion by central IFN-alfa in conscious, pylorus ligated rats. Gastroenterology 2001, 120: A927. IF: 13,0

Sütő G, Czimmer J, Király Á, Falusi B, **Undi S**, Mózsik Gy. IFN-alfa inhibits gastric secretion through central nervous system CRF in rats. Gastroenterology 2001, 120: A2724. IF: 13,0

**Undi S**, Király Á, Sütő G, Czimmer J, Mózsik Gy. Pathogenesis of reflux esophagitis after Helicobacter Pylori eradication. Zeitschrift für Gastroenterologie 2001, 39: 192. IF: 0,8

Czimmer J, Sütő G, Király Á, Falusi B, **Undi S**, Mózsik Gy. IFN-alfa decreases gastric acid secretion through CRF receptor in conscious, pylorus ligated rats. Zeitschrift für Gastroenterologie 2001, 39: 94. IF: 0,8

Falusi B, Czimmer J, Sütő G, Király Á, **Undi S**, Mózsik Gy. Central IFN-alfa decreases gastric acid secretion through peripheral nitric oxide. Zeitschrift für Gastroenterologie 2001, 39: 97. IF: 0,8

**Undi S**, Király Á, Sütő G, Varga G, Mózsik Gy, Horváth ÖP. Hypertensive Lower Esophageal Sphincter (HLES) and Gastroesophageal Reflux Disease (GERD). Zeitschrift für Gastroenterologie 2002, 40: 362. IF: 0,8

Illés A, Kassai M, Mózsik Gy, Péteri I, Sütő G, **Undi S**, Király Á. Effect of transcutaneous electrical stimulation (TES) on the anal sphincter function in patients with urge incontinence. Zeitschrift für Gastroenterologie 2002, 40: 337. IF: 0,8

**Undi S**, Sütő G, Czimmer J, Illés A, Weninger Cs, Kassai M, Mózsik Gy, Király Á. Anorectal testing in slow colonic transit patients. Zeitschrift für Gastroenterologie 2003, 41: 440. IF:1,1

Illés A, **Undi S**, Sütő G, Weninger Cs, Varga G, Horváth ÖP, Mózsik Gy, Király Á. Antireflux surgery does not alter esophageal body function. Zeitschrift für Gastroenterologie 2003, 41:440. IF:1,1

**Undi S**, Illés A, Sütő G, Varga G, Horváth ÖP, Király Á. Effect of laparoscopic antireflux surgery on esophageal motility in patients with GERD. Zeitschrift für Gastroenterologie 2004, 42: 446. IF: 1,0

Illés A, **Undi S**, Sütő G, Varga G, Horváth ÖP, Király Á. Long-term efficacy of laparoscopic Nissen fundoplication. Zeitschrift für Gastroenterologie 2004, 42: 417. IF: 1,0

Király Á, Faludy R, Illés A, Hunyady B, Késmárky G, Radnai B, **Undi S**, Nagy L. Increased mechanoreceptor sensitivity and hyperactive peristaltic responses to ballon distension in patients with non-cardiac chest pain (NCCP). Zeitschrift für Gastroenterologie 2004, 42: 419. IF: 1,0

Csizmadia Cs, Illés A, **Undi S**, Nagy L, Király Á. Visceral hypesthesia in patients with Crohn's disease. Zeitschrift für Gastroenterologie 2004, 42: 408. IF: 1,0

**Undi S**, Illés A, Csizmadia Cs, Nagy L, Király Á. Delayed gastric emptying predisposes to non-acid reflux. Zeitschrift für Gastroenterologie 2005, 43:521. IF: 0,8

Illés A, **Undi S**, Csizmadia Cs, Nagy L, Király Á. Effect of dietary fat to the gastric emptying in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD). Zeitschrift für Gastroenterologie 2005, 43:492. IF: 0,8

Lehoczky T, Meskó S, Simon I, Illés A, **Undi S**, Nagy L, Király Á. Gastroesophageal reflux disease with chronic respiratory symptoms. Zeitschrift für Gastroenterologie 2005, 43:498. IF: 0,8

Király Á, Illés A, **Undi S**, Nagy L, Kassai M, Weninger Cs. Gender differences in the symptoms and findings of patients with intractable constipation. Zeitschrift für Gastroenterologie 2005, 43:495. IF: 0,8

#### **A PhD-értekezéssel összefüggésben nem álló, hazai folyóiratban megjelent absztraktok:**

**Undi S**, Illés A, Weninger Cs, Kassai M, Sütő G, Király Á. Anorectalis manometria lassú colon-transit okozta obstipatio esetén. Magyar Belorvosi Archivum, 2004, S57: 138.

Király Á, Faludy R, Illés A, Hunyady B, Késmárky G, Radnai B, **Undi S**, Nagy L. Nyelőcső motilitás változása non-cardiac chest pain (NCCP) betegekben. Magyar Belorvosi Archivum, 2004, S57: 75.

Illés A, **Undi S**, Sütő G, Varga G, Horváth ÖP, Király Á. Antireflux műtét hosszú távú hatékonysága. Magyar Belorvosi Archivum, 2004, S57: 69.

Csizmadia Cs, Illés A, **Undi S**, Nagy L, Király Á. Visceralis hypesthesia Crohn-betegeknél. Magyar Belorvosi Archivum, 2004, S57: 43.

**Undi S**, Illés A, Csizmadia Cs, Nagy L, Király Á. Lassult gyomorürülés szerepe nem savas refluxban. Magyar Belorvosi Archivum, 2005, S58:129.

Illés A, **Undi S**, Csizmadia Cs, Nagy L, Király Á. A zsírbevitel gyomorürülésre kifejtett hatása reflux betegségben. Magyar Belorvosi Archivum, 2005, S58:105.

Lukács M, Illés A, **Undi S**, Csizmadia Cs, Sarlós P, Weninger Cs, Kassai M, Király Á. Idült székrekedésben szenvedő betegek nemi különbségei a tünetek és a vizsgálati eredményeik tükrében. Magyar Belorvosi Archivum, 2005, S58:105.

Illés A, Csizmadia Cs, Nagy L, Pordány B, **Undi S**, Lukács M, Király Á. A biofeedback kezelés hatása az anorectális funkcióra széklet inkontinencia esetén. Magyar Belorvosi Archivum, 2006, S59:82-83.

## Köszönetnyilvánítás

*Az alábbi személyeknek szeretném megköszönni az útmutatását, támogatását, segítségét és türelmét, melyet a PhD-értekezéshez vezető úton nyújtottak számomra:*

*Prof. Dr. Barthó Loránd*

*Dr. Benkó Rita*

*Dr. Wolf Mátyás*

*Dr. Pethő Gábor*

*A Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet munkatársai*

*Édesanyám, Édesapám, családom*

*Pethő Istvánné†*